Anno 1923

Tomo XVI

Fasciculo I

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Manguinhos

Summario:

GUERREIRO, CEZAR e BAPTISTA, BENJAMIM—Nota anatomica sobre um caso de rins concrescentes (Anatomical Note on a Case of Fused Kidneys) pp. . . . . 5—9
VILLELA, EURICO e BICALHO, CHAGAS—As pesquisas de laboratorio no diagnostico da molestia de Chagas (Laboratory Tests in the Diagnosis of Chagas Disease) pp. . . . . 13—31
LEÃO, ANTONIO EUGENIO DE ARÊA—As reacções de Wasserman e de Sachs-Georgi na lepra (The Wassermann and Sachs-Georgi tests in Leprosy) pp. . . . . 47—59
MAGALHÃES, OCTAVIO COELHO DE—A peste dos Polmões (Peste dos Polmões) pp. . . . . 71—185

AS MEMORIAS, orgão official do Instituto Oswaldo Cruz, são reservadas exclusivamente á publicação de trabalhos originaes nelle realizados.

Apparecerão em fasciculos, sem data fixa, havendo no minimo um volume por anno.

Toda a correspondencia deverá ser dirigida á «Redacção das Memorias do Instituto Oswaldo Cruz» – Caixa postal 926 – Rio de Janeiro. Endereço telegraphico: «Manguinhos».

Nota anatomica sobre um caso de rins concrescentes

pelos

Drs. BENJAMIN BAPTISTA E CEZAR GUERREIRO.

Professor da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Assistente do Instituto Oswaldo Cruz

(Com as estampas 1—2).

Necropsiando, no Serviço de Anatomia Pathologica, que o Instituto OSWALDO CRUZ mantém annexo á Santa Casa de Misericordia, o cadaver de A.V.P., de 54 annos, hespanhol, fallecido no Serviço Clinico do Dr. SYLVIO MONIZ, foi dado a um de nós encontrar uma anomalia renal que, por sua relativa raridade, é digna de registo.

Tratava-se dum individuo fallecido duma cachexia carcinomatosa, occasionada por um neoplasma desse typo, localizado na parotida esquerda com metastases gastricas e hepaticas.

Ao lado desse quadro, tal individuo apresentava tambem uma intensa aortite syphilitica, com alguns pontos de endaortite calcificante na crossa e volumosas exostoses dos corpos vertebrais, especialmente dos da 2ª. e 3ª vertebras dorsaes e dos da 1ª e 2ª lombares.

Examinando o apparelho urinario notámos a ausencia do rim do lado direito. No lado esquerdo, occupando a região renal encontrámos o rim respectivo muito alongado, dirigindo-se de cima para baixo e de fóra para dentro, preenchendo não sómente a loja renal, como atravessando o estreito superior da bacia e a parte mais superior do estreito inferior. Esta peça media 24 centimetros de comprimento, 7 centimetros de largura na parte superior e 6 centimetros na parte inferior.

Examinando a peça verificámos ser ella constituida de duas porções, uma superior e outra inferior, ligadas por um pediculo de 3 centimetros de largura.

Na parte anterior da referida peça, verificámos que, na face anterior da porção superior, encontra-se uma depressão analoga á que existe no bordo concavo do rim normal. Tratava-se, portanto, dum seio renal, por isso que ahi encontrámos a penetração da arteria renal que se dividia em 3 ramos, a sahida de 3 veias que depois constituiam a veia renal e um longo bassinete do typo

ramificado, ao qual succedia um uretere.

Na face posterior, verificámos que, na parte correspondente á porção inferior, existia uma depressão si bem que menos accentuada. Esta depressão, que representa um segundo seio renal, abrigava um bassinete com 3 ramos de origem, partindo delle um uretere. Ao nivel deste segundo seio renal penetrava uma arteria que se dividia em dois ramos.

Praticado o exame do bordo externo, que era ligeiramente convexo, verificámos ao nivel de sua parte media, um sulco bem pronunciado, separando de modo incompleto a peça anatomica em duas porções: uma superior, outra inferior ligadas por um pediculo. O bordo interno que era ligeiramente concavo, apresentava um sulco na sua parte media e ao nivel deste sulco, uma arteria que se dividia em 4 ramos dos quaes um penetrava na parte inferior da primeira porção da peça e outro na parte superior da segunda porção da peça, distribuindo-se os restantes no pediculo.

Sobre a extremidade superior desta peça anatomica estava situado o orgão suprarenal esquerdo, sendo que o direito existia tambem em situação normal.

Praticado um córte do bordo externo para o bordo interno, no orgão superior, verificámos que o uretere fazia seguimento a um bassinete formado pela reunião de dois ramos: um superior e outro inferior. O ramo superior recebia tres ramos secundarios que eram formados pelos calices das pyramides que occupavam os dois terços superiores do orgão. O ramo inferior recebia tres ramos que provinham dos calices correspondentes ás pyramides do terço inferior do orgão.

Praticado um córte da porção inferior da peça, do bordo interno para o bordo externo, verificámos que, nesta peça, existiam dois bassinetes cada um delles situado num seio renal. O bassinete superior partia do seio localizado ao nivel do terço superior da face posterior da peça e era formado pela reunião de dois que resultavam, por sua vez, da convergencia dos calices das pyramides situadas ao nivel do terço superior e do terço médio. O segundo bassinete estava situado ao nivel do segundo seio renal, localizado no bordo externo da peça, no ponto de união do terço medio com o terço inferior. Este segundo bassinete, que era sessil, recebia tres ramos provenientes dos calices das pyramides do terço inferior da peça.

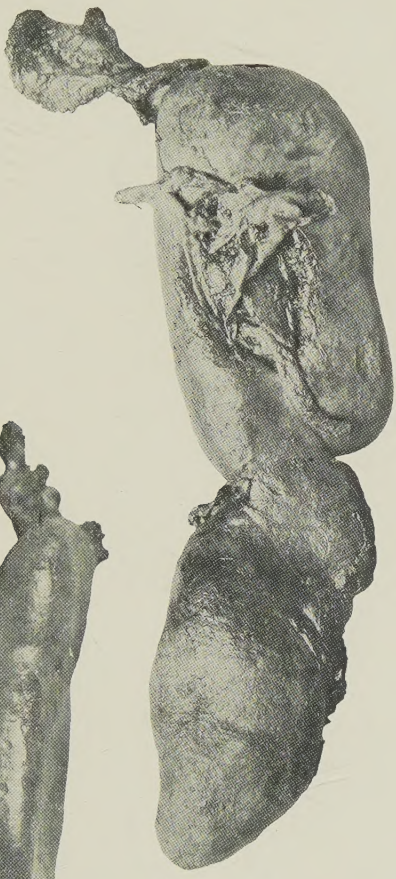
Explicação das estampas.

Estampa 1.

Fig. 1—Face anterior.
Fig. 2—Face posterior.
Fig. 3—Bordo externo.
Fig. 4—Bordo interno.

Estampa 2.

Fig. 1—Porção superior cortada do bordo externo para o interno.
Fig. 2—Porção inferior cortada do bordo interno para o externo.



1

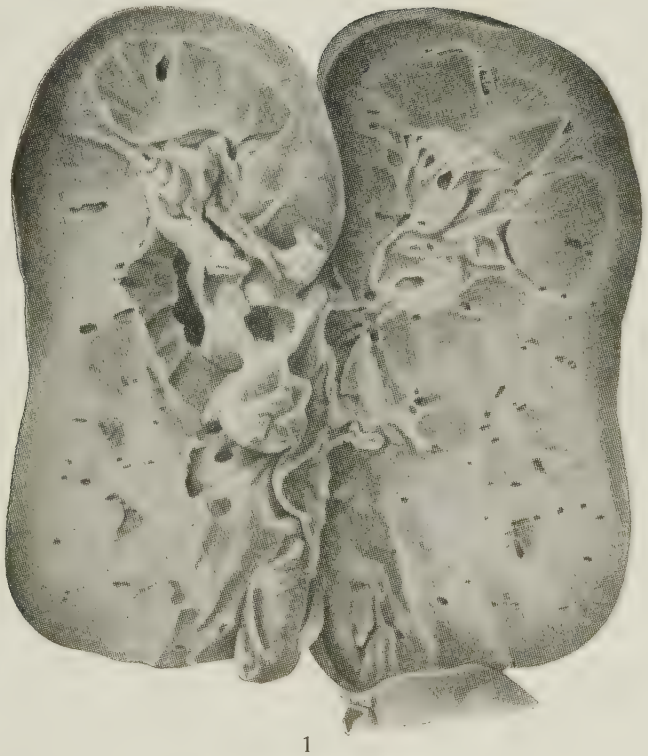
2

3

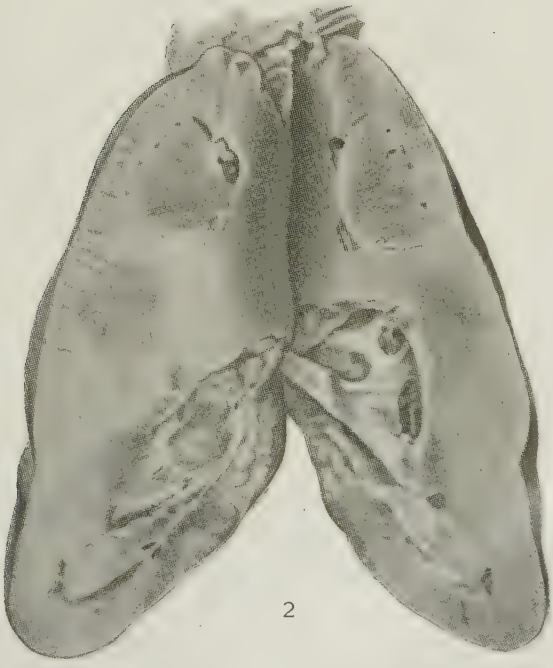
4

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/memorias-do-instituto-oswaldo-cruz_1923_16_1



1



2

CASTRO SILVA, del.

Anatomical Note on a Case of Fused Kidneys

by

BENJAMIN BAPTISTA, M. D., and **CEZAR GUERREIRO, M. D.,**

Professor of the Faculty of Medicine of Rio de Janeiro — Assistant of the Instituto Oswaldo Cruz

(With Plates 1—2).

At the Service of Pathological Anatomy run by the Instituto OSWALDO CRUZ at the Santa Casa da Misericordia and while carrying out the autopsy of the subject A. V. P., aged 54, spaniard, deceased in the Clinical Serviçe of Dr. SYLVIO MONIZ, one of us was able to observe an anomaly sufficiently rare to deserve being reported here.

The subject had died of cachexia and as a result of carcinoma of the left parotid gland, with metastases in stomach and liver.

Besides this he had intense syphilitic aortitis with some points of calcifying endaortitis of the crossa and voluminous exostoses of the bodies of the vertebræ, especially of the 2nd and 3rd dorsal and 1rst and 2nd lumbar.

Upon examining urinary apparatus, we noted the absence of a kidney on the right side. On the other side the corresponding kidney was found to be very elongated, with a downward and lateralward direction and filling not only its normal situation but traversing the superior circumference of the pelvis and the uppermost part of the inferior circumference. This anatomical piece measured 24 cm. of length, 7 cm. of width at upper part and 6 cm. below.

The piece was found upon examination to be made up of two portions, superior and inferior, united by a peduncle 3 centimetres wide.

The anterior surface of the upper portion displayed a depression similar to that found on the concave border of the normal kidney. It represented therefore the renal sinus since in it we found the renal artery to penetrate after dividing in three branches, and the three branches of the renal vein and a long renal pelvis of ramified type to emerge. The latter was followed by an ureter.

On the posterior surface we found on the part belonging to the lower portion a similar though less marked de-

pression. This depression, representing a second renal sinus, harboured a pelvis, with three branches of origin, and giving rise to a second ureter. Corresponding to this second renal sinus was the penetration of an artery dividing in two branches.

The lateral border, slightly convex, showed a well-marked groove, separating the piece in two portions, superior and inferior, joined by a peduncle. The medial border, slightly concave, displayed a groove towards the middle and at this point an artery dividing in 4 branches one of which penetrated the piece in the upper portion, another in its lower portion and the remainder distributing themselves on the peduncle.

At the upper end of the anatomical piece was located the left adrenal while the right was in its normal situation:

Upon making a section through the superior portion from the lateral to the medial border we observed that there were two pelves each one in its own renal sinus. The upper pelvis proceeded from the sinus of the upper third of posterior surface of the upper portion of the piece and was formed by two branches made up by the convergence of the calyces of the pyramids belonging to the upper and the middle thirds of the piece: The sceond pelvis was situated at the level of the second renal sinus which was located on the lateral border of the piece at the junction, of upper and lower thirds. This second renal pelvis, which was sessile, received three branches formed by the calyces of the pyramids of the lower third of the piece.

Explanation of Plates.

Plate I.

Fig. 1.—Anterior Surface.
Fig. 2.—Posterior Surface.
Fig. 3.—Lateral Border:
Fig. 4.—Medial Border.

Plate II.

Fig. 1.—Upper Portion. Section from lateral to medial border.
Fig 2.—Lower Portion. Section from medial to lateral border.

As pesquisas de laboratorio no diagnostico da Molestia de Chagas

pelos

Drs. EURICO VILLELA e **CHAGAS BICALHO**

Assistente do Instituto Oswaldo Cruz. Medico do Hosp. O. Cruz

(Com as estampas 3—8)

O diagnostico clinico da molestia de CHAGAS encontra nas pesquizas de laboratorio applicadas assim ás fórmas agudas como ás chronicas, não só um poderoso auxiliar, mas principalmente uma contraprova decisiva. O exame directo do sangue, a sua inoculação em animaes sensiveis, o xenodiagnostico, a reacção de fixação do complemento, prestam os mais relevantes serviços, embora o valor relativo de cada um destes processos seja differente e variavel, segundo a fórma clinica em que é applicado e conforme se considere a sua importancia pratica, ou doutrinaria.

O exame histopathologico, quer mostre a existencia de agglomerados parasitarios no interior dos tecidos, quer consigne a existencia das lesões caracteristicas do myocardio, só pode prestar serviços ao diagnostico *post-mortem,* uma vez que a difficuldade na execução de biopsias systematicas dos musculos, e os resultados aleatorios que tal pesquiza poderia fornecer, tornam pouco pratica a sua applicação ao diagnostico *intra-vita.* Não trataremos, pois, desta parte.

I) EXAME DIRECTO

Na fórma aguda o exame directo do sangue entre lamina e laminula é o processo de escolha para o diagnostico da molestia de CHAGAS. Uma gotta de sangue, colhido pela picada da polpa digital, e assim examinada, deixa ver os trypanosomos que, por suas dimensões e movimentos vivos, são facilmente notados e reconhecidos. O augmento dado pelas obj. C, D, ou DD e ocular 2 de ZEISS, é o mais conveniente.

A preparação corada pelo LEISHMANN ou GIEMSA fixará os caracteres do parasito para identificação posterior e documentação.

Quando raros os parasitos, pode-se procurar enriquecer o preparado pelo artificio seguinte: Colher 20 c.c. de sangue por puncção venosa em 2 c.c. de solução de citrato de sodio a 4 %; centrifugar por cinco minutos em fraca velocidade; retirar o plasma que sobrenada, despresando as hematias que se depositaram; centrifugar por 15 minutos em grande velocidade. Examinar o deposito como para exame directo.

Nas fórmas chronicas, o exame directo do sangue resulta negativo, não sendo meio de diagnostico utilizavel, mesmo com o methodo de concentração.

II) INOCULAÇÃO.

A inoculação do sangue em animaes sensiveis servirá nas fórmas agudas, na maioria dos casos, para a identificação definitiva e estudo posterior do parasito, visto como o exame directo já forneceu a prova diagnostica irrefutavel. Nos casos de individuos que tiveram recentemente a fórma aguda, ou suspeitos de tal, e nos quaes o trypanosomo não é encontrado ao exame directo, a inoculação de 10 c.c. de sangue em animal sensivel traz resultados decisivos. Convem, entretanto, fazer exames de sangue do animal repetidos e demorados, até um mez depois da inoculação, porque o apparecimento dos trypanosomos no sangue, se em geral se faz na segunda semana, pode ser retardado até aquelle prazo.

Como animaes reagentes podem ser empregados o cão e o gato jovens, o mico e a cobaia, sendo este um bom reagente pela constancia com que se infecta, pelo largo tempo que conserva no sangue o trypanosomo, e pela facilidade com que é obtido e mantido.

Nas fórmas chronicas a inoculação pode dar resultados preciosos e da maior significação doutrinaria, embora seja pouco pratico como processo rotineiro de diagnostico, pelo numero relativamente pequeno das inoculações positivas, pelo tempo de demora do resultado da reacção, e pelo trabalho que exigem os exames de sangue reiterados ou as pesquizas dos parasitos nos orgãos.

Inoculam-se dous ou mais animaes sensiveis (temos usado sempre cobaias) com 10 c.c. de sangue cada um e fazem-se exames de sangue repetidos e cuidadosos depois do 15º dia da inoculação. Em geral os trypanosomos apparecem em torno do 30º dia após a inoculação.

No caso de ser negativo o exame directo do sangue do animal, deve-se sacrifical-o após 1 e meio mezes e pesquizar os kystos parasitarios nos tecidos, de preferencia no myocardio. Esta pesquiza pode ser feita com a fixação pelo formol a 10 %, ou liquido de ZENKER; inclusão em parafina, e coloração pela hematoxylina-eosina.

Pode-se ainda usar para inoculação o sangue submettido a previo enriquecimento pelo processo usado para exame directo. Assim, em pequeno volume, podem-se inocular os parasitos provavelmente contidos em 30 ou 40 c.c. de sangue

Em uma serie de inoculações feitas com o sangue de 19 doentes de fórmas chronicas (cardiaca, nervosa, hypothyreoidiana, dystrophica e indeterminada) obtivemos cinco resultados positivos, assim discriminados:

Reg. Nº. 54 (Timotheo). (*) Fórma cardiaca; reacção de fixação do complemento *positiva.*

Reg. Nº. 162 (Bemvindo). Fórma cardiaca; reacção de fix. comp. *positiva.*

Reg. Nº. 161 (Geremias). Fórma cardiaca; reacção de fix. comp. *positiva:*

Reg. Nº. 97 (José). Fórma nervosa e hypothyreoidiana; desenvolvimento re-

(*) Unico caso em que a inoculação foi feita com plasma enriquecido por centrifugação.

tardado; aphasia. Reacção de fix. do comp. *positiva.*

Reg. N°. 106 (America). Fórma nervosa e hypothyreoidiana; infantilismo. Reacção de fix. do comp. *positiva.*

Estes resultados até agora fornecidos pelo exame directo do sangue dos cobayos dão uma percentagem provisoria de 26,3 de resultados positivos, a qual pode ser augmentada para mais, não só pelos exames em andamento e de novas inoculações, como pelas pesquizas ainda não feitas de kystos parasitarios nos tecidos.

Cumpre referir aqui aos trabalhos de BAYMA, que em varias inoculações obteve 2 casos positivos, trabalhando com sangue de doentes chronicos de Ribeirão Preto, S. Paulo, e um caso de TEJERA, da Venezuela, que obteve a infecção da cobaia com o sangue de uma doente cuja infecção datava provavelmente de mais de 10 annos.

Não ha que encarecer, nem precisa de ser exagerada, a importancia que esses factos têm na demonstração até á evidencia do diagnostico clinico, e na solidez com que cimentam a realidade do factor etiologico.

III) XENODIAGNOSTICO

As experiencias de MAGARINOS TORRES sobre o xenodiagnostico na mol. de CHAGAS são muito interessantes.

Fazendo picar individuos de fórma chronica (cardiaca) da molestia, conseguio elle infectar triatomas creados no laboratorio e alimentados em animaes novos, e demonstrar tambem por esta fórma a existencia de trypanosomos no sangue circulante.

Este facto, de grande valor para a epidemiologia, pois mostra que o homem pode ser um reservatorio permanente do parasito infectante, explica a alta percentagem de barbeiros infectados que se encontram nas cafúas onde não houve caso agudo recente, e tem, entretanto, para a pratica do diagnostico, valor menor. Exige manobras complicadas e demoradas, como a creação dos barbeiros, fazel-os picar aos doentes, e esperar o desenvolvimento do parasito no tubo digestivo do insecto. Demais, as pesquizas recentes de MAYER, que provam a possibilidade da transmissão hereditaria da infecção nos triatomas, tiram muito do seu rigor.

IV) FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO

Os primeiros ensaios sobre a reacção de BORDET e GENGOU applicada ao diagnostico da molestia de CHAGAS foram feitos por A. MACHADO, em Lassance, e publicados, em collaboração com C. GUERREIRO, no Brasil Medico de 15 de Junho de 1913, N°. 23.

Nesse trabalho os AA. fixaram a orientação do modo de obter o antigeno, afastando os extractos alcoolicos e glycoalcoolicos, o extracto aquoso de corpos de trypanosomos, e dando preferencia ao extracto aquoso de baço, rico em kystos de multiplicação do parasito. A technica seguida na preparação do antigeno, e que aconselham, foi a seguinte:

O baço de cães novos, muito infectados, é triturado e posto em maceração em trez partes de agua destillada phenicada a 1 % e na temperatura ambiente, ao abrigo da luz. A mistura é depois filtrada, addicionada de outro tanto de solução salina a 1,7 % e novamente filtrada. O liquido obtido constitue o antigeno.

Os AA. deixam consignada a especificidade do antigeno de cães infectados e a ausencia de relação dos resultados da reacção com o antigeno que prepararam e os da reacção de WASSERMANN.

Embora praticassem a reacção com

o liquido cephalo racheano ou o sôro de mais de 80 doentes (1) da fórma chronica e alguns da fórma aguda, com resultados concludentes, não publicaram os auctores nota complementar com os pormenores sobre as condições dos do entes e os resultados das reacções respectivas.

Em fins de 1919 e principios de 1920, MARQUES DA CUNHA e um de nós (2), aproveitando alguns casos agudos e chronicos da molestia de CHAGAS que tinham sob observação, tentaram repetir a reacção de BORDET e GENGOU segundo as indicações de MACHADO e GUERREIRO. Surgiram, porêm, difficuldades em obter baços que estivessem bastante parasitados. Como nos animaes infectados (no caso, cães jovens) é o coração a séde mais constante dos kystos parasitarios, foi elle utilizado na fabricação do antigeno, e usado comparativamente com o baço e o cerebro dos mesmos cães, coração de cobaia infectado e coração de cão normal. A technica de preparação do antigeno era mais ou menos a mesma para todos os orgãos, e muito proxima da indicada por MACHADO e GUERREIRO na preparação do seu antigeno aquoso.

O animal muito infectado é necropsiado logo depois da morte pelo processo da infecção ou pelo chloroformio. O orgão é retirado com cuidados de asepsia, libertado dos coagulos sanguineos, lavado rapidamente em agua physiologica, reduzido a pequenos fragmentos e triturado no gral, com ou sem auxilio de areia lavada e esterilizada. A polpa assim obtida é posta a macerar na geleira em duas a tres partes de agua physiologica ou agua destillada phenicadas a 0,5%. Depois de tres a quatro dias de maceração é filtrada em papel de filtro e exgottada por outro tanto de solução salina a 1,6 %, ou solução physiologica, phenicadas a 0,5 %.

O filtrado constitue o antigeno, que dosado em relação ao poder impediente, era empregado na dose de metade do maximo não impediente. A technica usada no seguimento da reacção foi a classica de WASSERMANN.

Foram utilizados na fabricação do antigeno o extracto aquoso de coração de 11 cães e de 6 cobaias, de 6 baços e de 1 encephalo de cães jovens infectados, e extracto aquoso de coração de cão normal.

Os sôros ensaiados foram de:

1—Honorina: Menina de 8 annos. Caso observado no periodo agudo, com trypanosomos no sangue, que um mez antes da reacção não mais eram encontrados.

2—Pedro: Menino de 2 annos, com trypanosomos no sangue alguns dias antes da reacção.

3—Anna: 9 mezes. Fórma aguda com trypanosomos no sangue alguns dias antes da reacção.

4—Franscisco: Fórma chronica (cardiaca), pae de Anna.

5—Mariano: Fórma chronica (cardiaca), pae de Pedro.

6—Maria: Fórma chronica (nervosa), mãe de Geralda, fórma aguda em observação.

7—João: 4 annos. Fórma nervosa, filho de Maria.

8—Carmina: Schistosomose.

9—X (Doente do Dr. A. LEÃO). Leishmaniose.

10—A (Doente do Dr. E. VILLELA). Bocio esporadico e ulcera fuso-espirillar.

11—B (Doente do Dr. E. VILLELA). Impaludismo, terçã mixta; sangue retirado logo depois de um accesso.

12, 13 e 14—Sôros W. positivo do serviço de WASSERMANN do Instituto O. CRUZ.

(1) Communicação pessoal.
(2) E. Villela. Trabalho inedito.

15, 16, 17 e 18—Sôros W. negativo, idem.

O sôro da doente Honorina servia de indice do valor do antigeno. Foram usados cinco antigenos differentes formados com extracto aquoso de 1 só coração; misturando dous ou mais corações; um mixto de baço do mesmo cão que fornecera um dos antigenos de coração; um de extracto de encephalo; um mixto de coração de 2 cães normaes; e um mixto de coração de cobaias.

O resultado geral feito com os cinco antigenos de coração de cães infectados foi o seguinte:

Honorina—positivo.

Francisco—positivo.

Maria—positivo.

Pedro—Uma vez fracamente positivo, outra negativo.

Anna—Uma vez fracamente positivo, outra negativo.

João—negativo.

Marianna—Sôro muito impediente.

X—negativo.

A—negativo.

B—negativo.

Carmina—negativo.

3 sôros W. positivo—negativos.

4 sôros W. negativo—negativos.

O antigeno mixto de baço e o de encephalo, embora de cães cujos corações forneceram bons antigenos, não revelaram poder fixador bom, bem assim o de coração de cão normal. O de coração de cobaia infectada tinha poder fixador muito fraco.

Os resultados negativos obtidos com coração de cobaia e baço e cerebro dos cães explicam-se pela pequena infecção de que eram séde. Dos baços usados só um mostrou regular infecção. Dahi a utilidade de examinar previamente o orgão para verificar o seu grau de parasitismo, o que se consegue em poucos minutos fazendo um esfregaço simples, do baço, ou após dissociação do coração, e corando pelo LEISHMAN. A ausencia ou a presença de abundantes fórmas de LEISHMANIAS dará indicações sobre a utilização posterior do orgão.

A reacção foi feita tambem com o sôro do sangue de 3 cães, sendo 2 normaes e 1 infectado chronico. O resultado foi o seguinte.:

Cão normal N°. 1—negativo.

Cão normal N°. 2—positivo.

Cão infectado—impediente.

Outras tentativas fizeram-se com o sôro de cães, e ellas mostraram que frequentemente fica impedida a hemolyse, d'onde a sua difficil utilização nesse genero de pesquizas.

Ainda com um de nós, MARQUES DA CUNHA teve occasião de fazer nova serie de reacções empregando como antigeno o extracto aquoso de coração de cães infectados. A technica da preparação do antigeno foi semelhante: o coração era extrahido e misturado em tres vezes o seu volume de agua physiologica ou destillada, phenicada a 0,5%, deixando em maceração por trez dias, e após filtrando e exgottando com outro tanto de solução salina a 0,8% ou a 1,6%, tambem phenicadas a 0,5%, de modo a fornecer liquido isotonico. As qualidades do antigeno não são modificadas com maceração em agua destillada ou physiologica.

Os sôros utilizados foram dos seguintes doentes:

A. de Mattos, 12 annos F. indeterminada, com desenvolvimento retardado. Fôra observada 7 annos antes, por um de nós, em Lassance, com a fórma aguda (1) Positivo.

Umbelina, f. cardiaca, bocio volumoso, dysthyreoidia. Positivo.

Guilherme, f. cardiaca. Positivo.

---

(1)—Nesta occasião fôra feita a reacção por A. Machado no periodo agudo e pouco depois delle, sendo os resultados respectivamente negativo e positivo.

Timotheo, f. cardiaca. Positivo.

Henrique, f. indeterminada. Positivo.

Cecilio, f. cardiaca. Positivo.

João Dias, f. cardiaca. Positivo.

Thomaz, f. cardiaca. Positivo.

Virgilio, f. cardiaca Positivo.

Heliodora, f. indeterminada, bocio, disturbios menstruaes. Negativo.

Geraldo, filho de Timotheo e Heliodora, 5 annos, f. indeterminada, bocio. Negativo.

Sôro W. positivo. Negativo.

Sôro W. negativo. Negativo.

Os doentes provinham todos de zonas proximas de Lassance. As testemunhas do valor do antigeno eram dadas pelo sôro de A. de Mattos, que servia de pedra de toque, e pelos sôros W. positivo e W. negativo, provenientes de doentes da Santa Casa e forneci los pela secção de reacção de WASSERMANN do Instituto O. CRUZ.

As reacções feitas quer com o extracto por agua physiologica, quer por agua destillada, deram sempre resultados identicos e como foi acima registrado. Assim, o antigeno de animaes infectados (cães) mostrou-se capaz de fixar com regularidade o complemento em presença do sôro de doentes da mol. de CHAGAS, demonstrando estricta especifidade.

O antigeno, é, porêm, muito labil. Em pouco tempo, mesmo em baixa temperatura, o seu poder fixador decahe, e cresce o poder impediente, o que o torna logo imprestavel.

Posteriormente A. LEÃO (1), a cujo cargo se achava a secção de WASSERMANN do Instituto, procedeu á reacção em outra serie de doentes.

A. LEÃO utilizou-se tambem do coração e do baço de animaes infectados (cães jovens) para obter o antigeno. Experimentou o extracto alcoolico, que não julga utilizavel, e aconselha o extracto aquoso, cuja technica modificou assim: O orgão triturado é posto em 10 vezes o seu peso de agua destillada phenicada durante um mez, na temperatura ambiente; filtrado depois em algodão é o liquido addicionado do NaCl em proporção que o torne isotonico.

O antigeno assim preparado foi usado com bons resultados, não mostrando poder fixador nem em presença de sôro de individuos normaes, nem de syphiliticos. Como porêm, torna-se rapidamente impediente, A. LEÃO recommenda a technica seguinte para se obter um antigeno estavel: seccar rapidamente o orgão, reduzil-o a pó, e guardar em baixa temperatura. No momento de usar, macerar o pó na proporção de 1,0 gr. para 100 c.c. de agua physiologica phenicada a 0,5 %, triturar fortemente, e passar em fina camada de algodão. Obtem-se assim uma emulsão opalescente que é o antigeno.

Nas experiencias de A. LEÃO o antigeno de baço mostrou-se mais sensivel que o de coração e é aquelle que acha recommendavel.

A reacção foi feita com o sôro de 15 doentes da molestia de CHAGAS e um de filariose, sendo parallelamente feita a reacção de WASSERMANN; sôros W. positivo e W. negativo serviram de testemunho negativo para o antigeno.

Eis os resultados obtidos:

Reg. N. 116: f. cardiaca. WASSERMANN: negativo. Reacção: positiva.

Reg. N. 104, f. cardiaca. WASSERMANN: negativo. Reacção: positiva.

Reg. N. 94, f. indeterminada. WASSERMANN: negativo. Reacção: positiva.

Reg. N. 93, achondroplasia. WASSERMANN: negativo. Reacção: positiva.

Reg. N. 102, f. cardiaca. WASSERMANN: negativo. Reacção: positiva.

Reg. N. 95, f. cardiaca. WASSERMANN: negativo. Reacção: positiva.

(1)—Trabalho inedito.

Reg. N. 96, f. indeterminada. WASMANN: negativo. Reacção: positiva.

Reg. N. 109, f. indeterminada. WASSERMANN: negativo. Reacção: negativa.

Reg. N. 112, f. nervosa. WASSERMANN: negativo. Reacção: positiva.

Reg. N. 111, f. cardiaca, mãe do doente 112. W.: duvidoso. R.: positiva.

Reg. N. 106, f. nervosa e hypothyreoidiana, infantilismo. W.: positivo R.: negativa.

Reg. N. 107, f. hypothyreoidiana. W.: duvidoso. R.: negativa.

Reg. N. 122., f. cardiaca. W.: positivo. R.: positiva.

Reg. N. 118, f. cardiaca, hypothyreoidiana. W.: positivo. R.: positiva.

Reg. N. 103, f. cardiaca, W.: negativo. R.: positiva.

Reg. N. 126, filariose. W.: positivo. R.: negativa.

Sôros WASSERMANN positivo W.: negativo—Resultado negativo.

Tendo no momento sob nossa observação cerca de 40 doentes de molestia de CHAGAS com fórmas clinicas variadas, e dispondo de uma raça de *Trypanosoma Cruzi* summamente virulenta, nada mais opportuno que se valer de tão propicia occasião para applicar nesses casos a reacção de BORDET e GENGOU e, se possivel, firmar de vez a questão, o que parece termos conseguido, vindo os nossos resultados accrecer a importancia que esse meio de diagnostico deve ter na trypanosomiase americana.

Nos nossos ensaios procuramos modificar o modo de preparar o antigeno de fórma a evitar os inconvenientes encontrados. Destes já assignalamos a labilidade notada por M. DA CUNHA e um de nós, e A. LEÃO; de outro lado, ora o coração se mostrou mais activo, ora o baço; ás vezes o antigeno no momento da reacção se mostra de pouco valor. Procurando evitar esses tropeços, examinamos previamente o orgão para verificar o seu grau de parasitismo; fazemos o antigeno mixto de coração e baço, e juntamos glycerina ao liquido de maceração com o fim de melhor fazer a extracção e melhor conservar as propriedades do antigeno.

A technica foi a seguinte: O animal (cão joven) muito infectado é necropsiado logo depois da morte pela infecção, ou de sacrificado pelo chloroformio ou gaz de illuminação. O coração e o baço são retirados com cuidados de asepsia, libertados dos coagulos, lavados rapidamente em sôro physiologico; reduzidos a pequenos fragmentos e triturados no gral com, ou sem, auxilio de areia lavada e esterilizada. A uma parte de polpa assim obtida, junta-se a mistura seguinte:

Agua destillada 2 partes.
Glycerina pura 1 parte.

Phenol q. s. para que fique na mistura a 0,5 %, e deixa-se macerar por 48 horas na temperatura ambiente. No fim desse tempo a mistura é passada em gaze, e deixada repousar no frigo algum tempo. Forma-se um sedimento, e o liquido que sobrenada é colhido para servir de antigeno.

Dosado o poder anti-complementar, será utilizado na metade da dose maxima não impediente e na metade da dóse minima impediente.

Esse antigeno deu optimos resultados, o que nos leva a aconselhar o seu uso na pratica commum. A dosagem do poder impediente é operação absolutamente indispensavel, e sem ella ficarão despidos de qualquer valor todos os resultados. Essa dosagem se fará com solução de antigeno a 1:10 e 1:100, e de accordo com o quadro abaixo.

Tubos	Antigeno a 1:10 ou a 1:100	Complem. dosado	Agua physiologica		Systema hemolytico.	
1	1 cc	1 cc	—	Estufa a	1 cc	Estufa a
2	0,9	1 —	0,1 cc	38°C durante	1 —	38°C. Leitura do resultado 2 hs. depois.
3	0,8	1 —	0,2 —	uma hora e meia.	1 —	
4	0,7	1 —	0,3 —		1 —	
5	0,6	1 —	0,4 —		1 —	
6	0,5	1 —	0,5 —		1 —	
7	0,4	1 —	0,6 —		1 —	
8	0,3	1 —	0,7 —		1 —	
9	0,2	1 —	0,8 —		1 —	
10	0,1	1 —	0,9 —		1 —	
11	—	1 —	1,0 —		1 —	
12	—	—	2,0 —		1 —	

A importancia dessa operação não se refere sómente ao poder impediente, e é tambem justificada por esse facto que, quando se empregam quantidades muito diminutas de antigeno, fica reduzido o poder fixador. Assim é que, v. g., o nosso antigeno numero 1 deu hemolyse parcial com 0,4 da solução a 1:10, total com 0,1. Nas reacções empregamos, portanto, a solução a 1:100 nas dóses de 0,7 e 0,5, sendo de notar que com 0,2 o poder antigenico já não era bastante intenso, Ha, pois, uma dose optima, que deve ser pesquizada. Sendo o antigeno o elemento mais importante da reacção, delle dependerão os resultados.

Os anticorpos foram fornecidos pelo sôro do sangue do doente, obtido por puncção venosa, inactivado pelo aquecimento a 56° c. durante meia hora antes do emprego, ou pelo liquido cephalo racheano obtido por puncção lombar e usado sem previa inactivação. Quando o sôro a examinar continha anticorpos impedientes repetiamos mais tarde a reacção deixando-o antes 24 horas em contacto com uma suspensão de sulfato de baryo a 1 % em agua physiologica, na dóse de 0,4 para um c.c. de sôro. As hemolysinas naturaes podem ser eliminadas collocando em contacto uma gotta de sangue de carneiro com o sôro que as contiver, deixando dez minutos na estufa a 37° C. centrifugando e decantando.

Para complemento foi usado o sôro fresco de cobaias, diluido ao decimo e assim dosado:

Tubos	Complemento	Soro physiologico	Systema hemolytico
1	1 cc	1 cc	1 cc
2	0,9	1,1	1 —
3	0,8	1,2	1 —
4	0,7	1,3	1 —
5	0,6	1,4	1 —
6	0,5	1,5	1 —
7	0,4	1,6	1 —
8	0,3	1,7	1 —
9	0,2	1,8	1 —
10	0,1	1,9	1 —
11	—	2,0	1 —

O resultado é lido após permanencia de 30 minutos na estufa a 38ºC. Se, v. g., ha hemolyse completa no tubo 7, parcial no 8, aproveitamos a diluição do tubo 6, isto é, 0,5 da solução ao decimo; como na reacção o complemento entra com 1 c.c. devemos diluil-o proporcionalmente de accôrdo com o resultado fornecido pela dosagem. No exemplo citado, a solução a 1:10 será diluida em parte igual de sôro physiologico, de tal modo que seriam aproveitados 0,05 de complemento puro.

Nem todos dão á dosagem do complemento o valor que ella merece, por julgarem sufficientes a dosagem de um dos elementos do systema hemolytico: o sôro hemolytico. E' outra a nossa opinião. Ha sôros contendo pequena quantidade de anticorpos immunizantes, e em que estes se associando ao antigeno só conseguem fixar uma parte do complemento, de tal modo que no tubo de reacção ha ainda uma hemolyse parcial provocada pelo complemento restante. Ora, com o emprego de 1 c.c. da solução ao decimo, isso pode se dar com mais facilidade ainda e em maior proporção, de modo que um sôro na verdade fracamente positivo, se tornará evidentemente negativo.

Na reacção, ao envez de empregarmos o sangue de carneiro e sôro hemolytico separadamente, demos sempre preferencia ao emprego de globulos sensibilizados previamente.

Assim, dosado o sôro hemolytico segundo a technica usual e feita a diluição de modo a ser empregada dose dupla da minima productora de hemolyse total no volume de 3 c.c. da dosagem, de cada 100 c.c. da diluição eram retirados 5 e substituidos por igual volume de sangue de carneiro desfibrinado e lavado trez ou quatro vezes em sôro physiologico esterilizado.

Esse systema hemolytico será usado em todos os tubos de reacção, ou de testemunhas, a menos que estas só exijam hematias a 5 %. Em relação a elle, e sempre na mesma dose de um c.c. serão dosados o antigeno e o complemento.

Preparado todo o material, será procedida á reacção propriamente, obedecendo ao seguinte quadro:

Tubos	Soro a examinar	Antigeno a 1:100 (1)	Comp. dosado	Solução physiol.		Systema hemolytico
1	0,2	0,7	1 cc	0,1	Estufa a	1 cc
2	0,2	0,5	1 —	0,3	38ºC durante	1 —
3	0,1	0 7	1 —	0,2	uma e meia	1 —
4	0,1	0,5	1 —	0,4	hora.	1 —
5	0,4	—	1 —	0,6		1 —
6	0,4	—	1 —	0,6		Sangue a 5 %—1cc
7	—	1,0	1 —	—		Syst. hem. 1cc.
8	—	—	1 —	1,0		« « 1cc.

(1) Está visto qne a diluição e a dose variam com cada antigeno.

Procedendo, ao mesmo tempo, á reacção com varios sôros, como é de boa technica, as testemunhas 7 e 8 da primeira, servirão a todas as outras.

Trabalhando com liquido cephalo racheano e sabendo que elle contem menos anticorpos que o sangue, é bom empregar-se maior dose, de 1,0 e 0,5 cc, como fizemos. A leitura dos resultados se fará depois de 2 hs de contacto, na estufa a 38ºC.

O schema abaixo resume os nossos resultados:

N. do doente	Nome	Diagnostico clinico	Wassermann	Reacção
51	Umbelina	Mol. de CHAGAS, f. cardiaca	Negativo (1921)	Positivo
94	Moreira	« « « « «	Negativo (1922 e 23)	Positivo
160	Benedicto	« « « « «	Positivo	Positivo
140	Maria Monteiro	« « « « »	Negativo	Negativo
48	Heliodora	« « « « indeterminada. Bocio; disturbios menstruaes.	Negativo	Positivo
141	Conceição	Mol. de CHAGAS, f. cardiaca	Negativo	Positivo
143	Luiza	« « « « «	Negativo	Negativo
154	Antonio	« « « « «	Positivo	Positivo
155	Bispo	« « « « «	Negativo	Positivo
158	Virgilio	« « « « «	Positivo	Positivo
149	Virginia	« « « « «	Negativo	Positivo
156	Araujo, pae de Donatilia, f. nervosa.	« « « « «	Positivo	Positivo
153	Dionisio	« « « « «	Negativo	Positivo
161	Geremias	« « « « «	Negativo	Positivo
162	Bemvindo	« « « « «	Negativo	Positivo
163	Tiburcio	« « « « «	Negativo	Positivo
159	José Soares	« « « « «	Positivo	Positivo
166	Manoel A. Costa	« « « « «	Negativo	Positivo
139	Ant.ª Menezes	« « « « indeterminada, desenvolvimento retardado, amenorrhéa.	Positivo	Positivo
107	« Pereira	Mol. de CHAGAS, f. hypothyreoidiana.	Negativo	Positivo
167	Argemiro	Mol. de CHAGAS, f. nervosa.	Negativo	Positivo
112	Olympio	« « « « «	Positivo em 923 e negat. em 922	Positivo
97	José	« « « « «	Negativo	Positivo
106	America	« « « « « e hypothyreoidiana; infantilismo.	Positivo	Positivo
114	Theodora	Mol. de CHAGAS, f. nervosa e hypothyreoidiana.	Negativo	Positivo
123	Avelina	Mol. de CHAGAS, f. nervosa	—	Positivo
113	Joanna	« « « « «, hypothyreoidismo.	Negativo	Positivo
124	Josepha	Mol. de CHAGAS, f. nervosa e hypothyreoidiana.	Positivo	Positivo
93	Amador	Achondroplasia.	Negativo	Positivo
49	Geraldo Carvalho	Mol. de CHAGAS, f. residuaria	—	Positivo
138	Geralda Lopes	« « « « «	Negativo	Positivo
148	Geraldo Santos	« « « « «	Negativo	Positivo
146	Gilda	« « « « «	Negativo	Positivo

Liquido cephalo racheano:

N. do doente	Nome	Diagnostico clinico	Wassermann	Reacção
107	Ant.ª Pereira	Vide acima.	Negativo	Negativo
137	Marcolina	Mol. de CHAGAS, f. cardiaca.	Positivo	Positivo
97	José	Vide acima.	Positivo	Positivo
118	Candida	Mol. de CHAGAS, f. nervosa.	—	Negativo
139	Ant.ª Menezes	Vide acima.	Negativo	Positivo
167	Argemiro	« «	Negativo	Positivo

Testemunhas:

Reg. 168 (Sôro)—Bouba—W. negativo. Reacção negativa.

Reg. 168 (liq. ceph. rach.)—Bouba—W. negativo. R. negativa.

Reg. 169 (Sôro)—Pleuriz com derrame. Albuminuria—W. e R. negativos.

M. N. Urethrite, cystite, prostatite gonococcicas—W. e R. negativos.

Reg. 76 externo—Abcesso quente do pé—R. negativa.

Reg. 122 externo—Myxedema—W. e R. negativos.

Reg. 118 externo—Paludismo—W. e R. negativos.

Reg. 83 externo—Ulcera da perna. W. e R. negativos.

Reg. 79 externo—Abcesso do pé—W e R. negativos.

Reg. 111 externo—Gastropathia. R. negativa.

A. F.—Meningite tuberculosa—R. negativa.

Em tres sôros sanguineos provenientes de doentes trypanosomados e correspondentes aos registros do Hospital O. CRUZ 137, 152 e 118, foi duvidosa a reacção devido aos anticorpos impedientes, que nem pelo contacto com sulfato de baryo desappareceram.

Procedemos tambem á reacção usando sôro de animaes infectados experimentalmente, cujos resultados são interessantes.:

1—Macaco *(Pseudocebus apella)* inoculado e reinoculado ha mais de seis mezes com *Tryp. Cruzi,* sem que nunca apparecesse no sangue o parasito. Resultado: positivo.

2—Macaco da mesma especie, não inoculado. Resultado: negativo.

3—Mico *(Callithrix jacchus)* inoculado recentemente com *Tryp. Cruzi* e contendo numerosos parasitas no sangue. Resultado: negativo.

4—Mico da mesma especie, novo. Resultado: negativo.

5—Mico da mesma especie, novo. Resultado negativo.

6—Cão inoculado com *Tryp. Cruzi* ha 8 mezes. Teve tryp. no sangue e paresia dos membros posteriores, de que se curou. Resultado positivo.

7—Cão inoculado com *Tryp. Cruzi* alguns mezes antes. Resultado negativo.

8—Cão normal. Resultado negativo.

9—Cão normal. Contem o sôro hemolysinas naturaes.

10 a 18—Nove cães inoculados em datas diversas. Todos com forte poder impediente.

Com a mesma technica preparamos antigeno mixto de coração e baço de cão normal, e o empregamos com resultado analogo ao de outros pesquizadores: esse antigeno não revelou poder fixador em presença do sôro de doentes da molestia de CHAGAS.

Em 33 reacções feitas com o sôro de doentes da molestia de CHAGAS e 6 com o liquido cephalo racheano, apenas 3 no primeiro caso e 2 no segundo deram resultado negativo. Convem assignalar que os doentes nº. 54, 97, 106,

116 e 162 tinham trypanosomos no sangue, demonstrados pela inoculação em cobaias.

As reacções feitas com 11 individuos normaes ou com outras doenças deram sempre resultado negativo, e a reacção de WASSERMANN, feita parallelamente mostra que nenhuma relação de dependencia ha entre ellas. As reacções negativas feitas com antigeno de cão normal completam a demonstração da especificidade da reacção.

Interessantes são os resultados das reacções em animaes. O macaco de infecção chronica forneceu reacção positiva, o mico no periodo de infecção aguda, negativa: tal qual na infecção natural do homem.

Ainda uma vez o cão mostrou ser pouco adequado a esse genero de pesquizas. A frequencia de sôros impedientes, com o systema hemolytico usado, é um tropeço grande, e no pequeno numero de reacções aproveitaveis, o resultado não foi concludente.

O antigeno conservou-se bem durante quatro mezes (de tanto data o nosso antigeno nº. 1) e mostrou sempre o mesmo poder fixador, que era grande, correspondendo ao que esperavamos quando modificamos o processo de preparação. E' muito interessante notar aqui que o nosso antigeno se portou de modo inverso ao que tem sido observado por outros pesquizadores em relação aos antigenos que descrevem: com o tempo diminue muito o poder impediente, sem que essa mudança atinja o poder antigenico.

Considerados em seu conjuncto as reacções que citamos feitas com sôro e liquido cephalo racheano de 67 doentes de molestia de CHAGAS de fórma aguda e fórmas chronicas de typos diversos, impressiona logo o pequeno numero de resultados negativos. Nas series de MARQUES DA CUNHA e um de nós temos negativa a reacção de:

João—fórma nervosa, provavelmente congenita.

Heliodora—fórma indeterminada; bocio.

Geraldo—fórma indeterminada; bocio.

Tres num total de 19. Inconstantes 2, as dos casos agudos em actividade.

Na serie de A. LEÃO: 2, num total de 15:

Reg. Nº. 109, fórma indeterminada.

Reg. Nº. 107, fórma hypothyreoidiana.

Dos casos que serviram ás nossas pesquizas com sôro em 33 reacções tivemos negativas 3:

Reg. Nº. 107, f. thyreoidiana.

Reg. Nº. 140, f. cardiaca.

Reg. Nº. 143, f. cardiaca.

Nos 6 casos em que empregamos o liquido cephalo rachiano tivemos 2 negativas:

Reg. Nº. 107, f. hypothyreoidiana.

Reg. Nº. 118, f. nervosa.

Dous casos que na serie de M. DA CUNHA deram resultados negativos, forneceram com o nosso antigeno resultado positivo; o caso de A. LEÃO deu reacção identica, quer com o sôro, quer com o liquido cephalo racheano.

Tomando o total, das reacções temos em 67 negativas 8, o que dá uma percentagem de 11,9. As observações foram feitas, em sua grande maioria, nos casos de fórma cardiaca e fórma nervosa; convem que sejam multiplicadas em outras fórmas chronicas. As reacções das fórmas agudas confirmaram as primeiras pesquizas feitas por MACHADO: emquanto dura o periodo agudo activo, ella é negativa ou inconstante; passado este, apparece fortemente positiva.

O numero de reacções no liquido cephalo racheano inda é pequeno para conclusões definitivas; em todo caso convem assignalar que na fórma nervosa, em 4, tres foram positivas.

Nenhum dos experimentadores obte-

ve reacção positiva em doença outra que não na molestia de CHAGAS. Foram experimentados sôros de syphiliticos, de atacados de bouba, de leishmaniose, de impaludismo, de schistosomose, de filariose, etc, sempre com resultado negativo, bem como negativo o de affecções como o bocio e o myxedema esporadicos, de que temos um exemplo de cada.

Do exposto, julgamos poder formular as conclusões seguintes:

I)—A reacção de fixação do complemento é, dos methodos de laboratorio, o mais pratico e o mais sensivel para o diagnostico das fórmas chronicas da molestia de CHAGAS.

II)— O antigeno preparado com extracto aquoso de baço e coração de animaes (cães jovens) infectados é estrictamente especifico.

III)—O extracto aquoso glycerinado mixto de coração e baço parece ser o que maior numero de qualidades resume.

IV)—O valor do antigeno parece guardar relação directa com o gráo de parasitismo do orgão utilizado, pelo que é conveniente examinar previamente o orgão nesse sentido.

V)—O extracto aquoso de animaes (cães jovens) não infectados pelo *Tryp. Cruzi* não fornece antigeno de poder fixador.

VI)—Não ha correlação entre a reacção, tal como é feita na molestia de CHAGAS, e a reacção de WASSERMANN, cujos resultados são inteiramente independentes uns dos outros.

VII)—A estricta especificidade da reacção merece reservas em relação a outras trypanosomiases, de um lado, e a antigenos preparados com outros trypanosomos, de outro.

V) OUTRAS PESQUIZAS APPLICADAS Á MOLESTIA DE CHAGAS.

Já nos referimos ás pesquizas histopathologicas e ao pouco que se pode esperar dellas no que concerne o diagnostico durante a vida.

A cuti-reacção e a intradermo-reacção foram tentadas por MARQUES DA CUNHA e um de nós, servindo do antigeno de coração como reagente, sem que fossem obtidos resultados apreciaveis. Tambem a sôro-precipitação deante do antigeno, bem como os ensaios em relação ao poder protector do sôro, não deram senão resultados negativos.

Repetimos com o antigeno aquoso glycerinado a intradermo-reacção em 16 doentes e os resultados confirmaram os dos ensaios anteriores.

Os exames hematologicos em relação ás modificações globulares não trazem indicações uteis ao diagnostico, e o exame do liquido cephalo racheano se não dá nenhum elemento positivo, tem, comtudo, pelas suas indicações negativas, grande valor no diagnostico entre as fórmas nervosas de trypanosomiase e de syphilis.

Os exames de BURLE DE FIGUEIREDO (1) e os nossos, do liquido cephalo racheano, somente no sentido do diagnostico da syphilis, deram resultados concordantes.:

I) aspecto limpido e incolor.

II) tensão muitas vezes augmentada.

III) reacção de NONNE-APELT e de ROSS JONES, para pesquiza de globulinas, negativas.

IV) não ha augmento de leucocytos de nenhuma especie.

V) reacção de WASSERMANN negativa.

A verificação do trypanosomo no sangue circulante dos doentes de fórma chronica da molestia de CHAGAS tem um grande interesse scientifico, e damos, por isso, para finalizar, ligeiras notas clinicas dos nossos cinco casos positivos.

Obs. 1—Timotheo Carvalho, 35 annos, casado, pardo, residente em Las-

(1) Pesquizas ineditas.

sance (Lavado). Caso de fórma cardiaca, cuja descripção detalhada será feita em trabalho posterior. Em 11—1—923 foram inoculadas 2 cobaias cada uma com 10 c.c. de plasma sanguineo concentrado como atraz ficou dito. Um delles morreu dois dias depois, por causa outra. Os exames repetidos quasi diariamente do sangue de outra cobaia revelaram em 11—II—923 a presença do *Tryp. cruzi.*

Obs. 2—America, nº. de reg. 106, entrada para o Hospital OSWALDO CRUZ em 20—IX—922, brazileira de Contria (Minas), 26 annos.

Tem aspecto de uma creança de 10 a 12 annos. Não fornece informações e nem produz som articulado. Face symetrica, fronte pequena, lisa, sem rugas; nariz em sella. Bocio bastante desenvolvido, sendo o lobulo direito do tamanho de uma laranja, o medio um pouco menor e o esquerdo de cerca de tres cents. de diametro. Não ha pellos genitaes, nem axillares. Thorax de desenvolvimento proporcional; glandulas mammarias muito pouco desenvolvidas.

Altura 115 cents; alt. do mento 96, alt. da furcula 92, do umbigo 64, do pubis 53, A. P. cephalico 17,7; transverso cephalico 14,7; arco naso-inion 1,5; diam. biauricular 11,0; bigonion 8,5. Peso 23 kls. 100.

Paniculo adiposo e musculatura pouco desenvolvidos. Pelle de côr parda, cicatrizes vaccinaes no braço direito. Plantas dos pés e das mãos humidas. Ganglios palpaveis sub-maxillares, cervicaes, epitrochleanos, inguinaes e cruraes. Mucosas normaes.

Lingua com todos os movimentos; dentes bons, sendo que os dois caninos superiores se implantam para fóra da linha alveolar. Abobada palatina muito pouco concava.

Intelligencia rudimentar, parece não entender a mór parte do que se lhe diz; ordens são ás vezes executadas, porêm, com difficuldade. Percebe alguma mimica; não parece haver perturbação da affectividade; a memoria só difficilmente pode ser pesquizada.

Em duas cobaias inoculados com 10 c.c. de sangue, cada um, em 24—III—923, verificou-se a presença do *Tryp. Cruzi* em 20—IV. Reacção de WASSERMANN no sangue: positiva (fortemente); idem no liquido cephalo-rachideo: negativa.

Obs. 3—José M. S., reg. do Hosp. O. CRUZ nº. 97, 12 annos, brazileiro, residente em Muquem (Lassance, Minas), preto.

Desenvolvimento retardado; ausencia de pellos na face e no corpo. Face ligeiramente asymetrica, com desvio para a esquerda. Dentes bons, bem implantados. Bocio; hypertrophia dos tres lobulos da thyreoide: o medio como um ovo de gallinha, o esquerdo um pouco maior, e o direito como uma azeitona. Estado de nutrição soffrivel. Thorax bem conformado.

Quando em marcha, inclina para a frente o tronco, trazendo as pernas em semi-flexão sobre as coxas, e os pés se collocam no solo em equinismo, de tal modo que recahe o peso do corpo nas pontas, e os calcanhares mal se apoiam. Quando em estação erecta tambem permanecem as pernas em ligeira flexão. Intelligencia rudimentar. Ouve regularmente, sem entender na maioria das vezes o que se diz. A sua resposta é quasi sempre o mesmo signal de cabeça, como de affirmação. Falta-lhe a palavra articulada.

Micropolyadenopathia, inclusive dos ganglios epitrochleanos, que se mostram do tamanho de um grão de ervilha. As plantas dos pés e das mãos humedecidas pelo suor.

R. de W. no liquido cephalo rachiano—negativa.

Obs. 4—Bemvindo S. M., reg. nº. 162, entrado em 11—II—923 e sahida em 5—III—923, com 43 annos, casado,

residente de Lassance. Tem sete irmãos, dos quaes 3 têm bocio. De 2 annos para cá sente fadiga «uma molleza», mal estar, preguiça, somnolencia.

Aspecto geral bom, bem corformado, soffrivelmente nutrido, bôa musculatura. Ganglios epitrochleanos, axillares e inguinaes augmentados. Ligeiro edema dos membros inferiores. Face symetrica. Tem na lingua uma cicatriz de chifrada de boi.

Thorax bem conformado. App. respiratorio normal.

Pulso: 75 batimentos em 1' (sentado). Extrasystoles frequentes. Coração: sopro mesosystolico audivel com maior intensidade no foco aortico. 2º bulha desdobrada. Augmento de volume do coração, revelado pela radioscopia e percussão.

Ventre flaccido; baço nem palpavel, nem perccutivel; figado com limite superior na 7ª costella e bordo inferior perceptivel no rebordo costal. Reflexos pupillares á luz, á distancia, e consensuaes, presentes. R. de W. no sangue: negativa. R. de fix. do compl. positiva. Duas cobaias inoculados com 10 c.c. de sangue em 26—II—923, mostraram a presença do tryp. em 24—III—923.

Obs. 5—Geremias M., entrada em 11—II—923 e sahida em 31 do mez seguinte, reg. nº. 161, 46 annos, brazileiro, residente em Lassance (Minas).

Diz ter tido rheumatismo desde ha 16 annos. Constantemente diarrhéas, colicas, gastralgia independente de alimentação, cephalalgia inconstante.

Individuo mal nutrido e pouco musculoso. Face magra e asymetrica, com ligeiro desvio para a direita, da commissura labial, onde são mais accentuadas as rugas. Bocca com mucosa normal, maus dentes; incapacidade de assobiar pela falta de dentes. Não tem augmento da thyreoide. Thorax symetrico, sem anomalias. Ventre flaccido. Membros bem proporcionados. Ganglios inguinaes palpaveis.

Apparelho respiratorio normal.

Figado da 6ª costella ao rebordo costal.

Reflexos cutaneos, tendinosos, pupillares, normaes.

App. circulatorio: sente oppressão, palpitações espontaneas raras, sensação de arythmia. Ligeiro edema dos membros inferiores. Insomnia. Não ha abaulamento ou retracção do precordio. Pulso molle, com mediana amplitude, ligeiramente irregular; apresenta uma arythmia bathmotropica Tmx. 13,5 Tmn. 7 (tensiophono de Vacquez). Ponta no 5º espaço, a 2 cms. abaixo do mammilo, na linha mammilar, a 10 cms. da linha media. Borda direita a 3 cms. para a direita da linha media; altura 7,8.

Primeira bulha na ponta abafada e arrastada; no fóco tricuspide, idem; segunda bulha desdobrada no foco aortico e pulmonar, menos abafada. A primeira bulha, arrastada, coincide com um sopro surdo mais audivel na ponta.

Reacção de WASSERMANN, no sangue, negativa. Reacção de fix. do complemento: positiva. Inoculação de 10 c.c. de sangue, em cobaias, em 26—II—923, deu resultado positivo em 21—IV—923 para *Tryp. cruzi.*

Explicação das estampas.

Fig. 1 — Electrocardiogramma de Bemvindo, D II, T 1/50. Mol. de CHAGAS, fórma cardiaca. Presença do *Tryp. cruzi* no sangue do cobayo inoculado com sangue. Reacção de fix. do comp. positiva.

Fig. 2 — Electrocardiogramma em D II, T 1/50. Mesmo doente da fig. 1.

Fig. 3 — Electrocardiogramma de Timotheo (D II, T 1/25), fórma cardiaca de mol. de CHAGAS. Inoculação de sangue em cobaya positiva. Fix. do comp. positiva.

Fig. 4 — Electrocardiogramma em D II, de Geremias, caso de mol. de CHAGAS, f. cardiaca. Inoc. positiva. R. de fix. do comp. positiva.

Fig. 5 — Electrocardiogramma em D II, Geremias, mesmo doente de fig. 4.

Fig. 6 — Electrocardiogramma em D III, Geremias, mesmo doente da fig. 4.

Fig. 7 — Electrocardiogramma em D III, mesmo doente da fig. 4.

Fig. 8 — Reg. 97, José Mol. de CHAGAS. Verificação de trypanosomos no sangue circulante, por inoculação. R. de fix. do comp.: positiva.

Fig. 9 — Reg. 97, José. Grupo de membros da familia de José. Nesta phot. se vê melhor o bocio que na fig. 8.

Fig. 10 — Reg. 106, America. Caso de mol. de CHAGAS em que a inoc. em cobayas deu resultado positivo. R. de fix. do comp.: positiva.

BIBLIOGRAPHIA.

1 – MACHADO & GUERREIRO – Da reacção de BORDET e GENGOU na molestia de C. CHAGAS como elemento diagnostico. Brasil Medico, nº 23, de Junho 15, 1913.

2 – BAYMA, T. – Molestia de C. CHAGAS – Ann. Paul. Med. Cir., 1914, vol. 4, nº 3, p. 57 e Rev. Med. São Paulo, 1914, anno 17, nº 1, p. 3.

3 – BRUMPT. – Le xenodiagnostic. Application au diagnostic de quelques infections parasitaires et en particulier à la Trypanosomose de CHAGAS. Bull. Soc. Pathol. exot., 1914, t. 7, nº 10, p. 706.

4 – BRUMPT. – Precis de Parasitologic.

5 – MAYER, M. – Ueb. Vererbung von Schizotrypanum im Zwischenwirt. Muench. Med. Wochenschr. 1922, nº 40, p. 444.

6 – TEJERA, ENRIQUE G. – Primer caso de Trypanosomose americana en el Estado Miranda. Gaz. Med. CARACAS, 1919, vol. 26, nº 11, p. 113.

7 – TEJERA, ENRIQUE G. – La Trypanosomosis americana o enfermedad de CHAGAS en Venezuela (nota preliminar), Gaz. Med. CARACAS, 1910, v. 26, nº 10. p. 104.

8 – TEJERA, ENRIQUE G. – La Trypanosomose americaine ou Maladie de CHAGAS au Venezuela. Bull. Soc. Pathol. exot., 1919, V. 12, Nº 8, p. 509.

9 – TORRES, M. – Mol. de C. CHAGAS, Transmissão do Tryp. Cruzi pela picada do Triatoma Megista (nota preliminar). Brasil-Medico, 1913, anno 27, nº 31, p. 361.

10 – TORRES, M. – Alguns factos que interessam á epidemiologia da mol. de CHAGAS. Mem. Inst. Osw. Cruz, 1915 t. 7, fac. 1, p. 120.

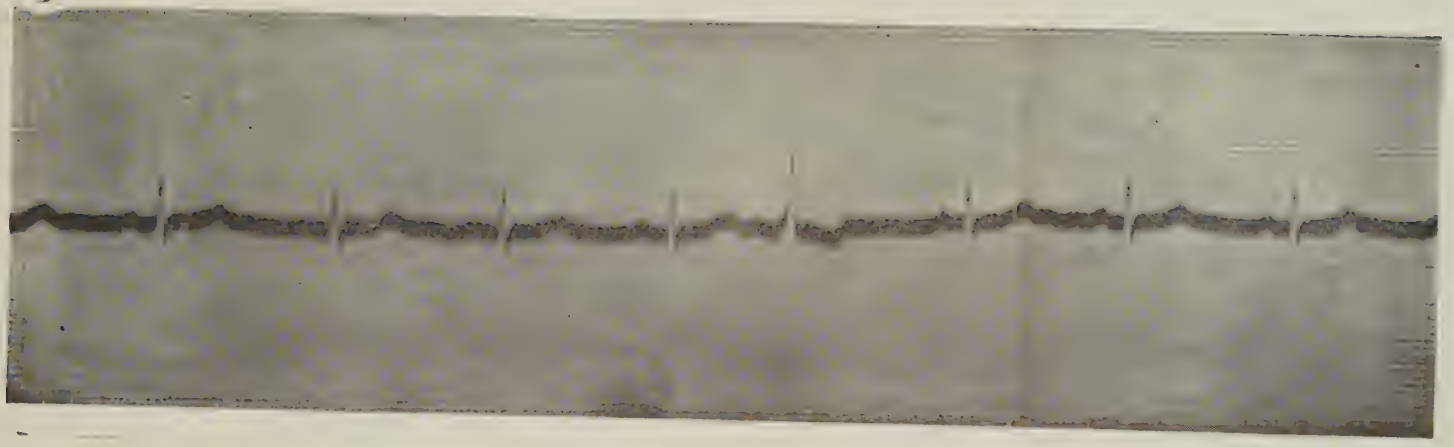


Fig. 1

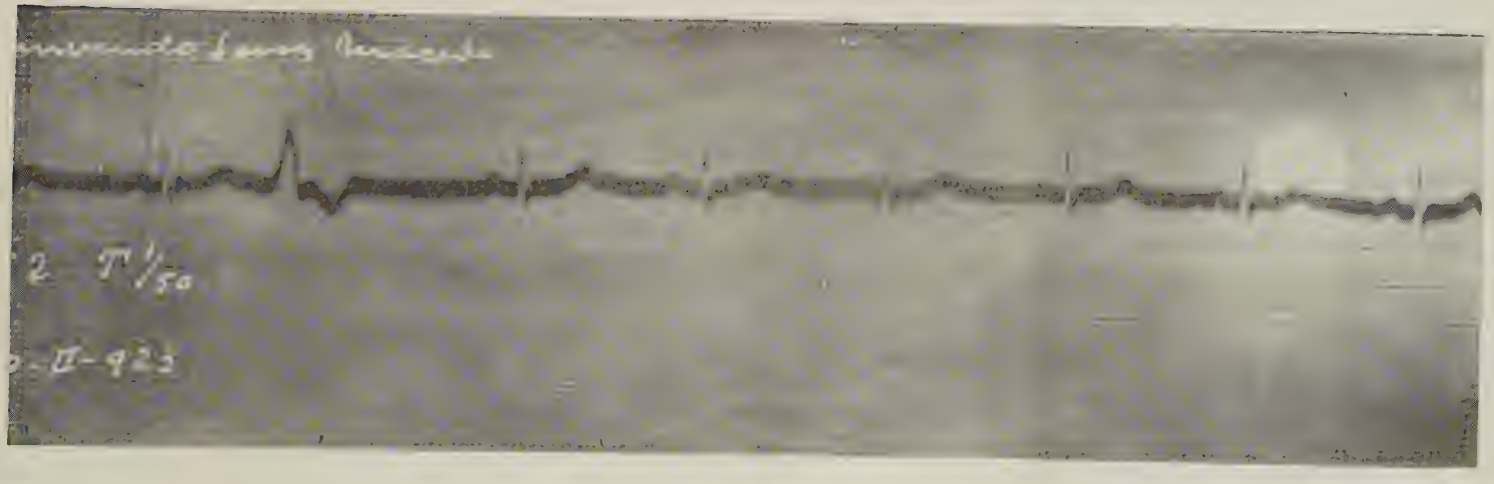


Fig. 2

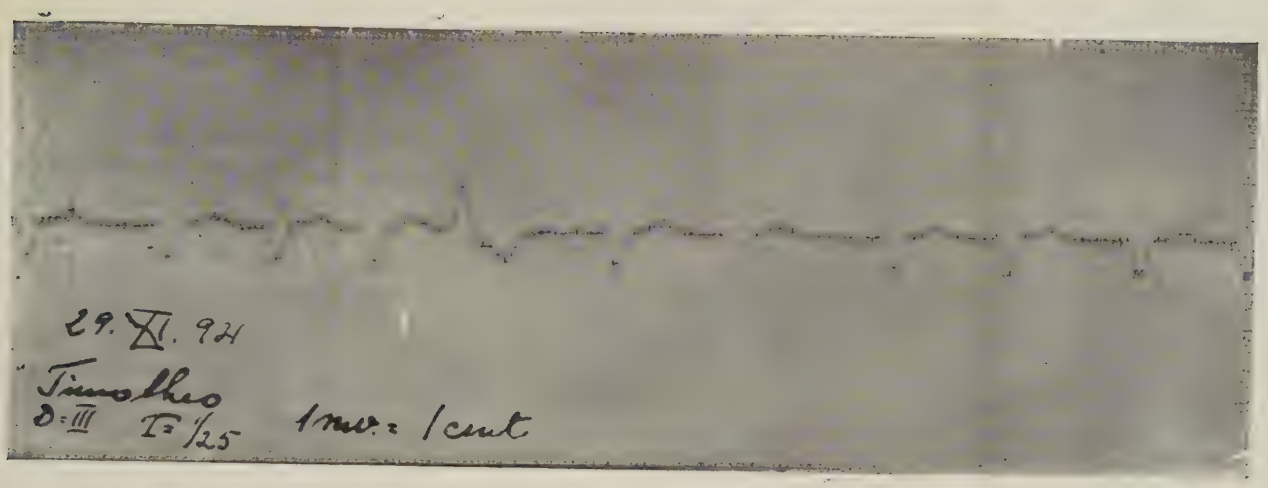


Fig. 3

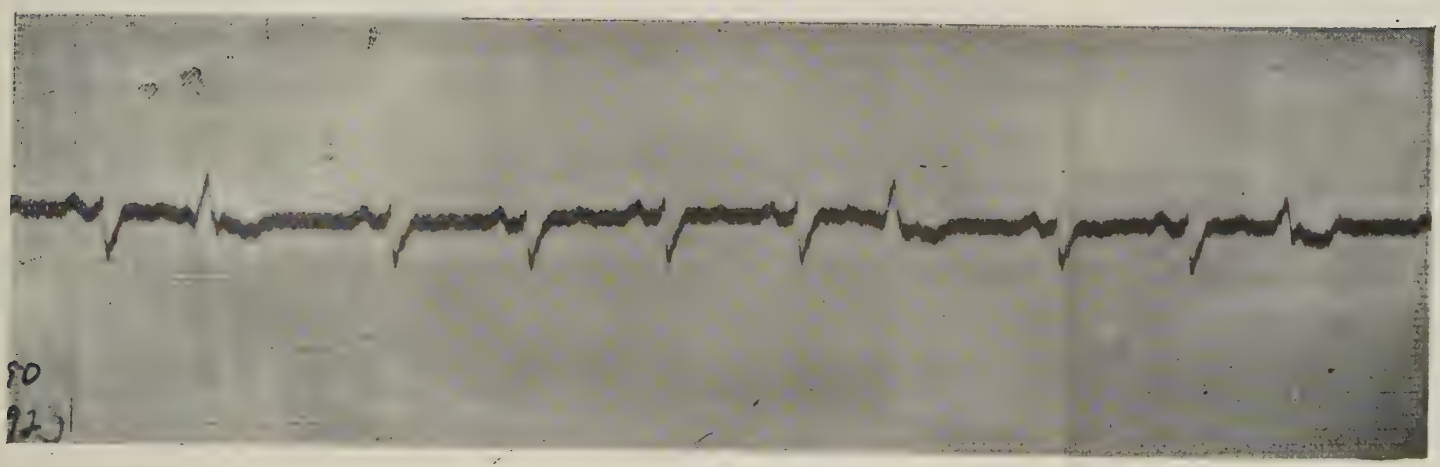


Fig. 4

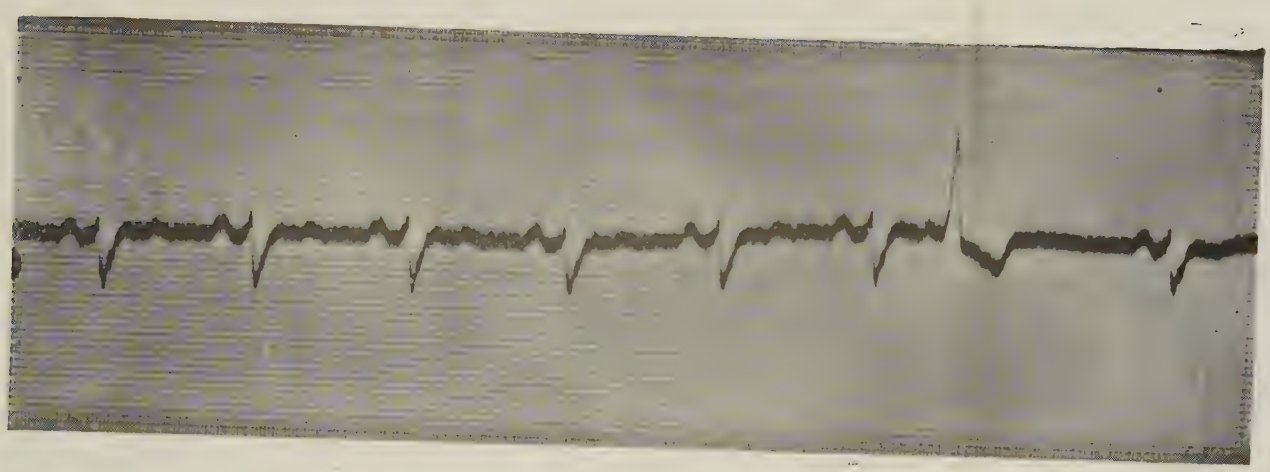


Fig. 5

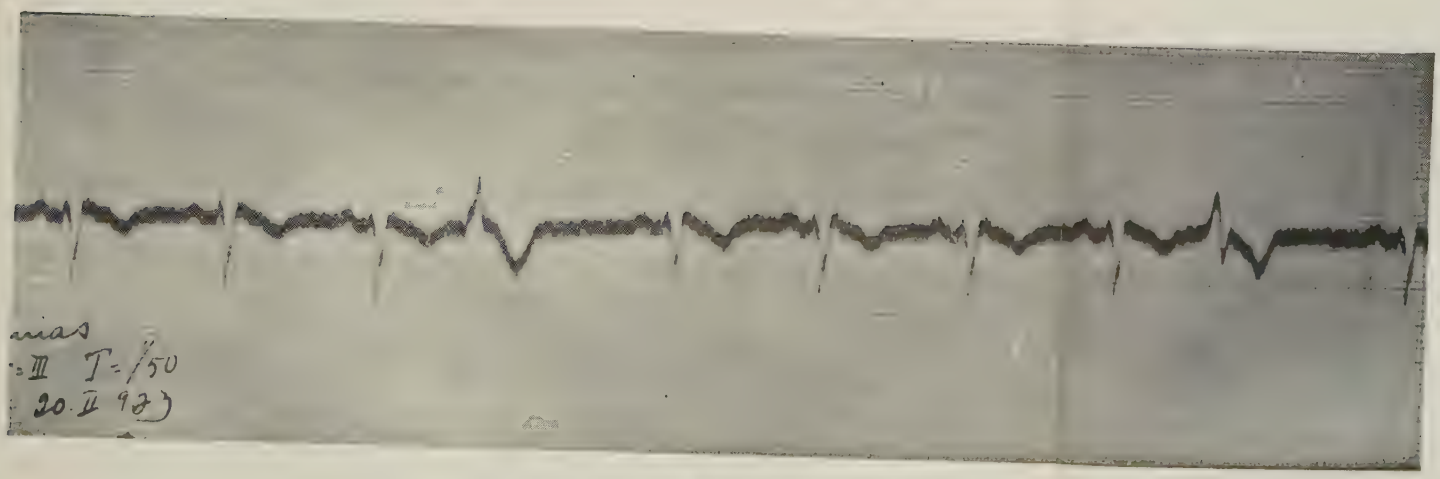


Fig. 6

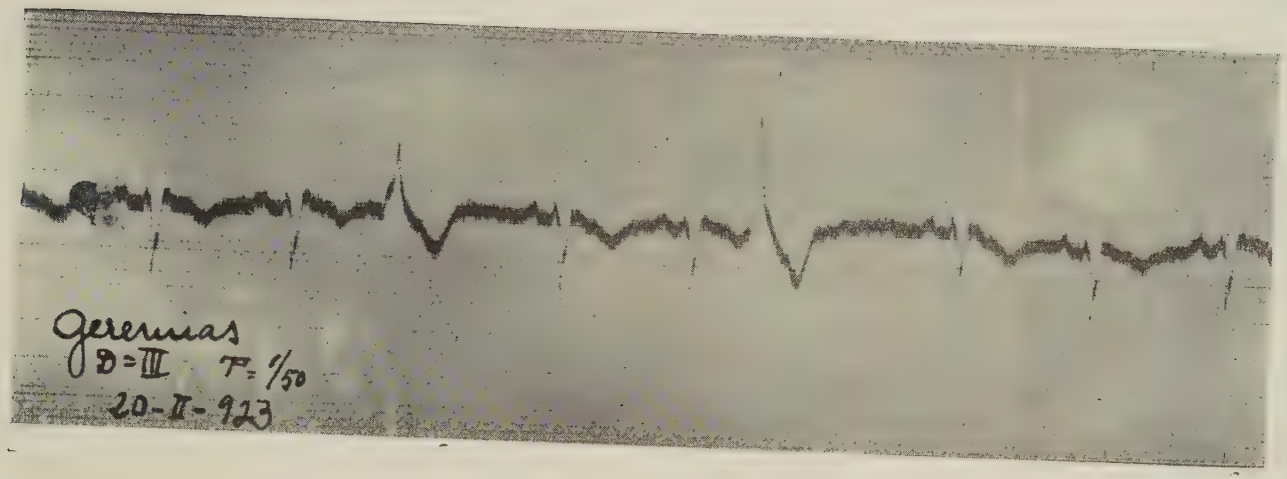


Fig. 7

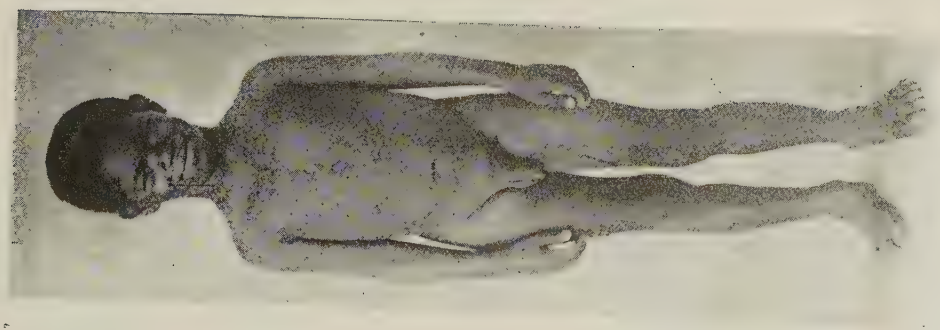


Fig. 8

Fig. 3

Fig. III

Laboratory Tests in the Diagnosis of Chagas' Disease

by

Dr. EURICO VILLELA and Dr. CHAGAS BICALHO

(With Plates 3–8).

The clinical diagnosis of CHAGAS' disease encounters in laboratory tests applied to its chronic as well as to its acute forms not only a valuable aid but above all a sure counter-proof.

Direct examination of the blood, inoculation into receptive animals, xeno-diagnosis, complement-fixation test, render the greatest services although the relative importance of each varies according to which clinical form it is applied to and whether practical or theoretically important results are aimed at.

Histopathological examination with a view to demonstrating agglomerations of parasites inside the tissues or with a view to demonstrating the characteristic lesions of the myocardium can only be of use post-mortem on account of the difficulty of making systematic biopsies in the muscles and the uncertainty of the results obtained which would make it unfit for the clinical diagnosis of the disease.

We will not go in this part of the question.

I) — DIRECT EXAMINATION.

In the acute form of the disease the ideal process for the diagnosis of CHAGAS' disease is direct examination between cover-glass and slide. A drop of blood obtained by pricking a finger reveals the trypanosomes which can be easily identified by their dimensions and their lively movements. The most suitable optical material is objs. C, D or DD and ocular 2 of ZEISS.

A Leishman or Giemsa preparation will then fix the caracters of the parasite for identification and conservation purposes.

When the blood contains few parasites the following process will be found useful: 20 c.c. of blood obtained from the vein are collected together with 2 c.c. of 4 % sodium citrate solution; this mixture is then centrifugated at a slow rate, the supernatant plasma is separated, and the red blood corpuscles are left. The plasma is then centrifugated at great speed during 15 minutes and the deposit is examined as above.

In chronic cases the direct blood examination is negative even by the concentrating process and is therefore not practical.

II) — INOCULATION.

In the acute cases, the inoculation of blood into receptive animals will be resorted to generally for definitive identification and for a further study of the parasite, as direct examination will mostly already have determined the diagnosis.

In the cases of subjects that have suffered lately from the acute form, or who are suspect of having done so, and in which trypanosomes are not found by direct examination, the inoculation of 10 c.c. of the blood into a receptive animal gives definite results. The animal's blood must be subjected to repeated and careful examination up to one month after the inoculation, for the appearance of the trypanosomes in the blood, which occurs usually within 15. days, can be belated to that extent.

As test-animals dogs, young cats, marmosets and guinea-pigs may be used, the latter being very recommendable on account of the length of time during which they retain the trypanosomes in the blood and the ease with which they can be obtained and kept.

In the chronic forms inoculation may give important theoretic results, but it is of small practical value on account of the relatively small percentage of positive inoculations, the delay in the obtaining of results, and the amount of work that the constant examining of blood and tissue exact.

Two or more receptive animals (we have always used guinea-pigs) are inoculated each with 10 c.c. of blood. Blood examinations are made repeatedly after the 15th day. Trypanosomes appear in the circulation usually about the 30th day.

When direct examination of the blood gives no result the animal should be killed after one month and a half and cysts of the parasites should be looked for, specially in the myocardium. This can be done by fixation in 10 % Formalin or ZENKER's fluid; imbedding in paraffin and staining in hæmatoxylin-eosin.

Inoculation can also be made with blood concentrated by the process used for direct examination. Under these conditions in a small volume of plasma one can inoculate practically all the parasites contained in 30 or 40 c.c. of blood.

In a series of inoculations made with the blood of 19 patients of chronic forms (cardiac, nervous, hypo-thyroidic, dystrophic and undetermined) we obtained five positive results, as follows:

Reg. N°. 54 (Timotheo) (1). Cardiac form; complement-fixation test *positive.*

Reg. N°. 162 (Bemvindo). Cardiac form; complement-fixation test *positive.*

Reg. N°. 161 (Jeremias). Cardiac form; complement-fixation test *positive.*

Reg. N°. 97 (Joseph). Nervous and hyperthyroidic form; backwardness of development; aphasia. Complement-fixation test *positive.*

Reg. N°. 106 (America). Nervous and hyperthyreoidic form; infantilism. Complement-fixation test *positive.*

These results, obtained by the direct examination of the blood of the guinea-pigs inoculated, give a provisory per centage of 26,3 positive results; this may be increased by the examinations that are being made and by other inoculations, as well as by the examination of the tissues for cysts .

We must mention here the results of BAYMA, who obtained in various inoculations 2 positive results working

(1) The only case in which the inoculation was made with plasm enriched by centrifugation.

with the blood of chronic patients from Ribeirão Preto, State of São Paulo, and one case of TEJERA, from Venezuela, who obtained a guinea-pig infection with the blood of a patient whose infection was already of more than 10 years standing.

There is no need to insist any further on the importance of these facts in rendering the diagnosis certain or in demonstrating once again the sureness of the etiological factor.

III) — XENODIAGNOSIS.

The experiments of MAGARINOS TORRES on the xenodiagnosis of CHAGAS' disease are of great interest.

He was able to infect triatomata reared in the laboratory and fed on young animals, by allowing them to suck blood of chronic cases of this disease, and consequently proved the existance of trypanosomes in the circulation of patients of this form.

This fact is of great importance in proving that man is a permanent reservoir of the parasite and explains the high proportion of infected triatomata in huts in which there has been no recent acute case of the disease. Its application to diagnosis is however not of great practical value on account of the time and trouble needed for the rearing of triatomata, allowing them to suck the patients' blood and awaiting the development of the parasite in the insect's digestive tube. Besides this, the recent researches of MAYER, proving the possibility of the hereditary trasmission of the infection in triatomata, impair its accuracy.

IV) — COMPLEMENT-FIXATION.

The first researches on the BORDET and GENGOU test in the diagnosis of CHAGAS' disease were made by A. MACHADO in Lassance, State of Minas Geraes, and published with C.GUERREIRO collaboration in the Brasil Medico of June 15th 1913, nº. 23.

In this publication the authors standardised the way of obtaining antigen, rejecting alcoholic and glycero-alcoholic extracts, aqueous extracts of trypanosomes and using aqueous spleen-extracts, with plenty of reproduction-cysts of the parasite. The technic they advise in the preparation of the antigen is the following:

The spleen of highly-infected puppies is triturated and then macerated in water containing 1 % phenol under ordinary conditions of temperature and in the dark. The mixture is then filtered and the same quantity of a 1,7 % saline solution added and filtered once more. The liquid obtained is the antigen.

The authors observe that the results obtained are specific and that there is no relation between them and those obtained with the antigens used for the WASSERMANN reaction.

Although they carried out the reaction with the cerebro-spinal fluid or the serum of 80 patients(*) of the chronic form and of a few cases of the acute one, with conclusive results, they did not publish another note with the details of the patients' conditions and the corresponding results.

Towards the end of 1919 and the beginning of 1920, MARQUES DA CUNHA and one of us (*), attemptéd to repeat the BORDET-GENGOU test according to MACHADO and GUERREIRO's indications on some patients of the chronic and the acute forms of CHAGAS' disease they had under observation. They experienced, however, some difficulty in obtaining sufficiently infected spleens. As in infected animals (in this case, puppies) the heart is the seat of the greatest number of parasitic cysts, they made use of it as an antigen comparing it at the same time with the spleen and brains of the same dogs, infected guinea-pigs'

(*) Communicated to us personally.
(*) E. Villela, unpublished work.

heart and normal dogs' heart. The technic used in the preparation was the same for all organs and very similar to that indicated by MACHADO and GUERREIRO in the preparation of their aqueous antigen.

Highly infected animals are necropsied immediately after they have died as a consequence of the infection or been killed by chloroform. The organs removed aseptically, freed from blood-clots, washed quickly in saline solution, cut into pieces and triturated in a mortar with or without washed and sterilised sand. The pulp that is thus obtained is placed with 2 or 3 volumes of saline solution containing 0,5 % phenol in the refrigerator. After three or four days of maceration it is filtered over filter paper and the the same volume of a 1,6 % saline or of a normal saline with 0,5 % phenol is applied.

The filtered liquid is the antigen: it was titrated as to its inhibitory power and half of the greatest not inhibitory dose was used. The technic for the remaining part of the reaction was the classic WASSERMANN technic.

Aqueous extracts of the heart of 11 dogs and 6 guinea-pigs were used as well as 6 spleens and one brain of infected puppies and the aqueous extract of normal dog heart.

The sera tested were of:

1. Honorina: 8 years of age. Case observed in the acute period with trypanosomes in the blood, which could not be found one month before test.

2. Pedro: 2 years of age, with trypanosomes in the blood a few days before test.

3. Anna: 9 months. Acute form with trypanosomes in the blood a few days before test.

4. Francisco: Chronic (cardiac) form, father of Anna.

5. Marianno: Chronic (cardiac) form, father of Pedro.

6. Maria: Chronic (nervous) form, mother of Geralda, acute form observed.

7. João: 4 years. Nervous form, son of Maria.

8. Carmina: Schistosomatosis.

9. X (Patient of Dr. A. LEÃO). Leishmaniosis.

10. A (Patient of Dr. E. VILLELA). Sporadic goitre and fuso-spirillar ulcer.

11. B (Patient of Dr. E. VILLELA). Malaria, mixed tertian, blood drawn immediately after an access.

12, 13, 14. WASSERMANN-positive sera of the WASSERMANN service of the Institute.

15, 16, 17 and 18. WASSERMANN-negative sera, ditto.

The serum of the patient Honorina was used for estimating the value of the antigens. 5 different antigens were employed, viz., of an aqueous extract of 1 heart, or of several mixed; 1 mixed with the spleen of the same dog that furnished one of the heart-antigens; 1 of brain extract; 1 mixed antigen of two normal dogs hearts and one mixed one of guinea-pigs hearts.

The general result made with the five antigens of infected dogs' hearts was the following:

Honorina: positive.

Francisco: positive.

Maria: positive.

Pedro: once slightly positive, another time negative.

Anna: once slightly positive, another time negative.

João: negative.

Mariana: very inhibitory serum.

X: negative.

A: negative.

B: negative.

Carmina: negative.

3 WASSERMANN-positive sera: negative.

4 WASSERMANN-negative sera: negative.

The mixed spleen and brain antigens

as also the normal dog heart antigens, although of dogs that furnished good heart-antigen, did not demonstrate good fixing properties. The antigen of the heart of infected guinea-pigs had a very weak fixing power.

The negative results obtained with the antigens of dogs' spleen and brain and with guinea-pigs' hearts can be explained by the slightness of their infection. Of the spleens employed only one showed an average infection, which shows the necessity for examining the organs to make sure they are sufficiently infected. This can be done by making a smear preparation of the spleen or by dissociating the heart muscle and staining by LEISHMAN's process. The presence or the absence of a great number of Leishmania-forms will indicate whether the organ should be made use of or rejected.

The test was also carried out with the serum of 3 dogs, two of them normal and one in chronic infection. The results were as follows:

Normal dog 1: negative.
Normal dog 2: positive.
Infected dog: inhibition.

Other attempts were made with dog-serum that only proved that there was frequently inhibition of hemolysis which makes dogs inadequate for this kind of work.

Still in collaboration with one of us, MARQUES DA CUNHA had the opportunity of making another series of tests using aqueous extracts of the heart of infected dogs as antigen.

The technic of antigen-preparations was very similar: the heart was mixed with three times its volume of normal saline or of distilled water containing 0,5 % phenol and after filtering treated with the same amount of 0,8 % saline or of 1,6 % saline also containing 0,5 % phenol so as to render the liquid isotopic. The properties of the antigen are not affected by maceration in distilled water or in saline.

The sera employed were of the following patients.

A. de Mattos, 12 years. Undetermined form, with backwardness of development. He had been observed by one of us some 7 years before at Lassance in the acute stage of the disease (*). Positive.

Umbelina. Cardiac form, voluminous goitre, dysthyreoidism. Positive.

Guilherme. Cardiac form. Positive.

Timotheo: Cardiac form. Positive.

Henrique. Undetermined form. Positive.

Cecilio. Cardiac form. Positive.

João Dias. Cardiac form. Positive.

Thomaz. Cardiac form. Positive.

Virgilio. Cardiac form. Positive.

Heliodora. Undetermined form, goitre, menstrual trouble. Negative.

Geraldo. Son of Timotheo and Heliodora, 5 years. Undetermined form, goitre. Negative.

WASSERMANN-positive serum. Negative.

WASSERMANN-negative serum. Negative.

The patients were from the surroundings of Lassance. Controls for the antigens were serum of A. de Mattos and the two WASSERMANN-positive and negative sera of patients of the Santa Casa furnished by the section for WASSERMANN-reactions of the Institute.

The results obtained with aqueous and with saline extracts gave always the same results which are registered, higher up. The antigens of infected animals (dogs) proved to be able to fix the complement when mixed with serum of patients of CHAGAS' disease in a strictly specific way.

(*) At that time the test carried out in the acute stage and shortly after it by A. MACHADO, gave respectively negative and positive results.

Later A. LEÃO (*) who was in charge of the section for WASSERMANN reactions of the Institute, carried out the reaction in another series of patients.

A. LEÃO also made use of the heart and spleen of infected animals (puppies) as antigen. He tried alcoholic extracts, the use of which he does not consider practicable and advises aqueous extrats which he prepares in the following way. The triturated organ is placed with ten times its volume of phenicated distilled water during a month under normal conditions of temperature: the liquid is then filtered through cotton-wool and enough NaCl is added to it to make it isotonic.

This antigen gave good results and did not fix the complement when mixed with normal or with syphilitic sera. However as it becomes rapidly inhibitory, A. LEÃO advises drying the organ and reducing it to powder and preserving it at a low temperature so as to maintain its stability. To be prepared for use, the powder is macerated in phenicated saline solution, at the rate of 0,1 grm. per 100 c.c. of liquid; it is then triturated and filtered through a thin layer of cotton-wool. The opalescent emulsion thus obtained is the antigen.

In A. LEÃO's experience the spleen gives a more sensitive antigen than the heart and he accordingly recommends it.

The complement-fixation test and the WASSERMANN reaction were carried out simultaneously on 15 patients of CHAGAS's disease and on one of filariasis; WASSERMANN positive and negative sera were used as negative controls for the antigen. The results obtained were the following:

Nº. 116: Cardiac form WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº. 104: Cardiac form WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº 94: Undetermined form WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº. 93: Achondroplasia. WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº. 102: Cardiac form WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº. 95: Cardiac form WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº 96: Undetermined form WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº. 109: Undetermined form WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Negative.

Nº. 112: Nervous form WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº. 111: Cardiac form WASSERMANN: uncertain. Complement-fixation: Positive.

Nº. 106: Nervous and hypotyroidic form, infantilism. WASSERMANN: Positive. Complement-fixation: Negative.

Nº. 107: Hypothyroidic form WASSERMANN: Uncertain. Complement-fixation: Negative.

Nº. 122: Cardiac form WASSERMANN: Positive. Complement-fixation: Positive.

Nº. 118: Cardiac and hypothyroidic form WASSERMANN: Positive. Complement-fixation: Positive.

Nº. 1033: Cardiac form. WASSERMANN: Negative. Complement-fixation: Positive.

Nº. 126: Filariasis. WASSERMANN: Positive. Complement-fixation: Negative.

WASSERMANN positive and negative sera: Complement-fixation: Negative.

As we had at hand 40 patients of CHAGAS' disease, with different clinical forms and possessed at the same time

(*) Unpublished work.

a very virulent race of *Trypanosoma Cruzi* we thought it opportune to apply the BORDET and GENGOU test to these cases so as to establish this test on a sure footing. Our results are entirely favourable to the importance of this test in the diagnosis of american trypanosomiasis.

In our preliminary tests we tried to modify the preparation of the antigen so as to avoid the disadvantags that had been observed. These were the lability of the antigen already noticed by M. DA CUNHA and one of us, and by A. LEÃO: on the other hand sometimes the heart proved to be more active and so metimes the spleen; finally at times the antigen at the moment of use proved to be of little value. To avoid these drawbacks we made previous examinations of the organs to verify their degree of infestation; we made heart and spleen mixed antigens; and we added glycerin to the maceration liquid so as to improve the extraction and subsequent preservation of the antigen.

The technic was as follows: a highly infected puppy is necropsied immediately after its death in the course of the infection or as a result of the application of chloroform or gas. Heart and spleen are removed aseptically, freed of blood clots washed in saline solution, cut into small pieces and triturated in a mortar with or without the aid of washed and sterilised sand. To one part of pulp thus obtained are added:

Distilled water 2 parts.

Pure glycerin 1 part.

Phenol q. s. to make a concentration of 0,5 %.

After 48 hours maceration under ordinary temperature conditions, the mixture is filtered through gauze and allowed to stand for some time in the refrigerator. A deposit is formed and the supernatant liquid is taken for use as antigen.

Once its anti-complementary power has been titrated, it is used in half the maximum non-inhibitory or half the minimum inhibitory dose.

This antigen gave very good results so that it can be recommended for practical purposes. Titration of the inhibitory power is indispensable as results would otherwise have no power to convince. This titration should be made with antigen-solution at 1/10 and 1/100 according to the following table:

Tubes	Antigen 1/10 or 1/100	Titzated complement	Physiologic saline		Hemolytic System	
1	1 c.c.	1 c.c.	—	Incubator	1 c.c.	Incubator
2	0.9	1 —	0.1 c.c.	at 38°C. Du-	1 —	at 38°C. Rea-
3	0.8	1 —	0.2 —	ring 1 ½	1 —	ding of re-
4	0.7	1 —	0.3 —	hours.	1 —	sults after 2
5	0.6	1 —	0.4 —		1 —	hours.
6	0.5	1 —	0.5 —		1 —	
7	0.4	1 —	0.6 —		1 —	
8	0.3	1 —	0.7 —		1 —	
9	0.2	1 —	0.8 —		1 —	
10	0.1	1 —	0.9 —		1 —	
11	—	1 —	1.0 —		1 —	
12	—	—	2.0 —		1 —	

The importance of this preliminary test is not only as regards the inhibitory activity of the antigen but also as regards the fact that when very small quantities of antigen are used, its complement fixing properties are reduced. Our antigen n°. 1, for instance, gave partial hemolysis with 0,4 of the solution at 1/10 and total hemolysis with 0,1. In carrying out the test we used consequently the 1/100 solution in doses of 0,7 and 0,5: 0,2 was already deficient in antigenic power. The optimal dose has to be ascertained and as the antigen is the most important element of the test, results will depend on its reliability.

The antibodies were furnished by the patients' blood, obtained from the vein, inactivated by heating at 56°C. during half an hour, or by the cerebrospinal fluid obtained by punction and used without previous inactivation. When the serum to be tested contained inhibitory antibodies we repeated the test later after having allowed it to stand for 24 hours mixed with an emulsion of Baryum sulphate in saline solution, in the proportion of 0,4 to 1 c.c. of serum. Natural hemolysins could be eliminated by adding one drop of sheep-blood to the serum that contained them, leaving them 10 minutes in the incubator at 37°C. centrifugating and decanting.

As alexin (complement) we used fresh guinea-pig serum at 1/10 and titrated in the following way.

Tubes	Complement	Physiologic Saline	Hemolytic System
1	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.
2	0.9	1.1	1 —
3	0.8	1.2	1 —
4	0.7	1.3	1 —
5	0.6	1.4	1 —
6	0.5	1.5	1 —
7	0.4	1.6	1 —
8	0.3	1.7	1 —
9	0.2	1.8	1 —
10	0.1	1.9	1 —
11	—	2.0	1 —

Results are read after half an hour in the incubator at 38°C. If for instance, tube 7 shows complete hemolysis, tube 8 partial hemolysis, we make use of tube 6, i. e, of 0,5 of the 1/10 solution: as the complement enters into the reaction with 1 c.c. we must dilute it to obtain a quantity proportionate to results indicated by titration. In the example given the 1/10 solution is diluted with equal parts of saline solution so that it corresponds to 0,5 undiluted complement.

Some authors do not give complement-titration its due value as they suppose it is enough to titrate one of the elements of the hemolytic system, viz. the hemolytic serum. In this we differ. Some sera contain only a small quantity of immune anti-bodies which after their union with the antigen only fix part of the complement so that in the test tube there is still a partial hemolysis due to the remainder of the complement. With the use of 1 c.c. of the 1/10 solution this happens still more readily so that in reality a slightly positive serum will give an obviously negative result.

We have preferred previously sensitised red blood-corpuscles instead of adding separately the sheep-corpuscles and the hemolytic serum.

After titration of the hemolytic serum according to the usual method, the dilution was made allowing for double the minimum quantity that produced total hemolysis in the 3 c.c. of titration. From each 100 c.c. 5 c.c. were removed and substituted by the same volume of sheep-blood defibrinated and washed 3 or 4 times in normal saline solution.

This hemolytic system will be used in all the test-tubes as well as in controls, unless, the latter only need corpuscles at 5 %. It is in relation to this system that antigen and complement will be titrated.

After this preliminary work the reaction itself is undertaken in the following way.

Tubes	Serum to be tested	Antigen 1/100 (1)	Titrated complement	Physiologic Saline		Hemolytic system
1	0.2	0.7	1 c.c.	0.1	Incubator	1 c.c.
2	0.2	0.5	1 —	0.3	at 38°C du-	1 —
3	0.1	0.7	1 —	0.2	ring 1 ½	1 —
4	0.1	0.5	1 —	0.4	hours.	1 —
5	0.4	—	1 —	0.6		1 —
6	0.4	—	1 —	0.6		5% Blood corpuscles—1c.c.
7	—	1.0	1 —	—		hem. Sys. 1c.c.
8	—	—	1 —	1.0		« « 1c.c.

(1) Of course dilution and quantity vary with the antigen employed.

When carrying out tests on several sera, controls 7 and 8 of the first will do for all the remainder.

When working with cerebro-spinal fluid, it is advisable to make use of higher doses, 1c.c. and 0.5 c.c., as we have done, in view of the fact that cerebro-spinal fluid contains fewer antibodies than the blood. Reading of results is performed after two hours in the incubator at 38°C.

If the test is made with several sera as is usual, the controls 7 and 8 will do for all of them.

In working with cerebro-spinal fluid it is advisable to use a greater quantity, viz. 1,0 or 0,5 cc., as it contains fewer antibodies. Reading of results should take place after 2 hours of incubation 38°C.

The following table indicates results obtained:

Controls:

Reg. Nr. 168 (serum)—Yaws. W. negative. Reaction negative.

Reg. Nr. 168 (cerebrospinal fluid) Yaws. W. negative. Reaction negative.

Reg. Nr. 169 (Serum). Pleuritis with hydrothorax. W. and Reaction negatives.

M. N. Gonococcic Urethritis, prostatitis and Cystitis. W. negative. Reaction negative.

Reg. Nr. 76 (Consulting) W. Abcess in foot. W. negative. Reaction negative.

Reg. Nr. 122 (Consulting) Myxoedema. W. negative. Reaction negative.

Reg. Nr. 118 (Consulting) Malaria. W. negative. Reaction negative.

Reg. Nr 83 (Consulting) Ulcer of foot. W. negative. Reaction negative.

Reg. Nr. 79 (Consulting) Abcess of foot. W. negative. Reaction negative.

The following table reproduces our results:

N. of patient	Name	Clinical Diagnosis	Wassermann	Complement fixation
51	Umbelina	CHAGAS' disease. Cardiac f.	Negative (1921)	Positive
94	Moreira	« « « «	Negative (1922 and 23)	Positive
160	Benedicto	« « « «	Positive	Positive
140	Maria Monteiro	« « « «	Negative	Negative
48	Heliodora	« « Undetermined form. Goitre; menstrual trouble	Negative	Positive
141	Conceição	CHAGAS' disease. Cardiac f.	Negative	Positive
143	Luiza	« « « «	Negative	Negative
154	Antonio	« « « «	Positive	Positive
155	Bispo	« « « «	Negative	Positive
158	Virgilio	« « « «	Positive	Positive
149	Virginia	« « « «	Negative	Positive
156	Araujo, father of Donatilia, nerv. form.	« « « «	Positive	Positive
153	Dionysio	« « « «	Negative	Positive
161	Geremias	« « « «	Negative	Positive
162	Bemvindo	« « « «	Negative	Positive
163	Tiburcio	« « « «	Negative	Positive
159	José Soares	« « « «	Positive	Positive
166	Manoel A. Costa	« « « «	Negative	Positive
139	Antonia Menezes	« « Undetermined f. backwardness of development, amenorrhéa.	Positive	Positive
107	Antonia Pereira	CHAGAS' disease. Hypothyroidic f.	Negative	Positive
167	Argemiro	CHAGAS' disease. Nervous f.	Negative	Positive
112	Olympio	« « « «	Positive in 923 and negat. in 922	Positive
97	José	« « « «	Negative	Positive
106	America	« « « and hypothyroidic f; infantilism.	Positive	Positive
114	Theodora	CHAGAS' disease. Nervous and hypothyroidic f.	Negative	Positive
123	Avelina	CHAGAS' disease. Nervous f.	—	Positive
113	Joanna	« « « Hypothyroidism	Negative	Positive
124	Josepha	CHAGAS' disease. Nervous and hypothyroidic f.	Positive	Positive
93	Amador	Achondroplasia.	Negative	Positive
49	Geraldo Carvalho	CHAGAS' disease. Residual f.	—	Positive
138	Geralda Lopes	« « « «	Negative	Positive
148	Geraldo Santos	« « « «	Negative	Positive
146	Gilda	« « « «	Negative	Positive

Cerebro spinal fluid.

N. of patient	Name	Clinical diagnostic	Wassermann	Complement fixation
107	Ant.a Pereira	See above	Negative	Negative
137	Marcolina	CHAGAS' disease cardiaca f.	Positive	Positive
97	José	See above	Positive	Positive
118	Candida	CHAGAS' disease nervous form	—	Negative
139	Ant.a Menezes	See above	Negative	Positive
167	Argemiro	« «	Negative	Positive

Reg. Nr. 111 (Consulting) Stomach-trouble. W. negative. Reaction negative. A. F. Tubercculous Meningitis Reaction negative.

In three cases of trypanosomiasis, registered under the numbers 137, 152 and 118 at the Oswaldo Cruz Hospital, the reaction fell out uncertain owing to the inhibitory antibodies which were not eliminated even by contact with Baryum Sulphate.

The test was also applied to the serum of experimentally infected animals which gave interesting results:

1. Monkey *(Pseudocebus apella)* inoculated and reinoculated during six months with *Trypanosoma Cruzi* without ever demonstrating the parasite in the blood. Results: positive.

2. Monkey of the same species, not inoculated. Results.: Negative.

3. Marmoset *(Callithrix jacchus)* recently inoculated with *Trypanosoma Cruzi* and with numerous trypanosomes in the blood. Results: Negative.

4. Marmoset of same species, young speccimen. Results. Negative.

5. Marmoset of same species, young Results. Negative.

6. Dog inoculated with *Trypanosoma Cruzi* since 8 months. He showed trypanosomes in the circulation and paresis of the hind legs, which he got over. Result: Positive.

7. Dog inoculated with *Trypanosoma Cruzi* some months beforehand. Results: Negative.

8. Normal dog. Result: Negative.

9. Normal dog. Serum has natural hemolysins.

10-18. Nine Normal dogs inoculated at different dates. All of them with strong inhibitory properties.

With the same technic we prepared an antigen mixed of normal dog heart and spleen: this antigen did not show any complement-fixing properties when mixed with serum of cases of CHAGAS' disease.

Out of 33 tests made with sera of patients of CHAGAS' disease and 6 made with cerebro-spinal fluid, only 3 of the former and 2 of the latter gave negative results: Patients nº. 54, 97, 106, 161 and 162 had trypanosomes in the blood, which were demonstrated by inoculation in guinea-pigs.

The 11 tests applied to normal subjects or patients of other diseases gave constantly negative results and results of the WASSERMANN reaction showed correlation with the complement-fixation.

Negative results obtained with antigen of normal dogs complete the demonstration of the specificity of the reaction.

The results in the cases of animals tested is interesting. The monkey in a state of chronic infection gave a positive reaction, the marmoset in a state of acute infection, a negative one: exactly what happens in the case of man.

Dogs once again proved to be unsuitable for these tests. Frequent inhibitory acti-

vity when employed with the hemolytic system indicated was a great drawback and results of the small number of successful reactions were not conclusive.

The antigen keeps well during 4 months (which is the time we have our antigen nº. 1) and it shows always the same fixing power, which is considerable as we expected it to be when we modified the process of preparation. It is interesting to observe that with time our antigen, contrarily to antigens that others describe, loses it inhibitory power without losing antigenic power at the same time.

Considered as a whole the tests performed on the sera and cerebro-spinal fluids of 67 patients of CHAGAS' disease, of acute and chronic cases, and the different types, what astonishes is the small number of negative results. In the series of MARQUES DA CUNHA and one of us, negative results were obtained with:

João: nervous form, probably congenital.

Heliodora: undetermined form; goitre:

Geraldo: undetermined form; goitre.

Three out of a total of 19, two were inconstant, those of the acute cases in activity. In A. LEÃO's series: 2 out of a total of 15::

Reg. Nr. 109, undetermined form.

Reg. Nr. 107, hypothyroidic form.

In our cases, out of 33 sera tested we only obtained 3 negative results:

Reg. Nr. 107, thyroidic form.

Reg. Nr. 140, cardiac form.

Reg. Nr. 143, cardiac form.

In the 6 cases in which we tested the cerebro-spinal fluid we had 2 negative results:

Reg. Nr. 107, hypothyroidic form.

Reg. Nr. 118, nervous form.

Two cases that in M. DA CUNHA's series gave negative results, gave positive results with our antigen; A. LEÃO's gave identical results with the serum and the cerebro-spinal fluid.

Out of a total of 67 reactions, 8 were negative, which gives a proportion of 11,9 %. The observations were mostly made on cases of the cardiac and nervous forms: they ought now to be extended to the other chronic forms. Tests carried out on the acute forms confirm MACHADO's first results viz that during the active acute period results are negative or inconstant; after this stage is over the test becomes clearly positive.

The number of reactions made on the cerebro-spinal fluid is still very reduced for definite conclusions; 3 out of 4 cases of the nervous form were positive.

None of the research-workers obtained positive results in any other than CHAGAS's disease. Sera of cases of syphilis, yaws, leishmaniosis, malaria, schistosomatosis, filariasis etc. were tested with negative results as also were those obtained with diseases such as sporadic goitre and myxœdema one sample of each of which we disposed of.

From what has been exposed we are enabled to draw the following conclusions:

1) — The complement-fixation is the most practical and most sensitive of laboratory test for the diagnosis of the chronic forms of CHAGAS's disease:

II) — The antigen prepared with the aqueous extract of heart and spleen of infected animals (puppies) is strictly specific;

III) — A mixed glycero-aqueous extract of heart and spleen offers the greatest number of advantages;

IV) — The value of the antigen appears to be proportionate to the parasitic infestation of the organ, so that it is advisable to make a previous examination of the organ used.

V) — The aqueous extract of organs of animals (puppies) not infected with

Trypanosoma Cruzi does not furnish a complement-fixing antigen.

IV) — There is no correlation between the WASSERMANN reaction and te complement-fixation test in CHAGAS's disease: results of these tests are entirely independent.

VII) — The strict specifity of the test must accepted with reserves as regards other trypanosomiases, on the one hand, and antigens prepared with other trypanosomes on the other.

V)—OTHER RESEARCHES APPLIED TO CHAGAS' DISEASE.

We have already mention histopathological research and the little that can be expected of it in the diagnosis during the life of the patient.

Cuti-reactions and intradermo-reactions were tried by MARQUES DA CUNHA and one of us without appreciable results: heart antigen being then used, Precipitation of serum and antigen were also tried but these, like the researches made with regard to the protective power of the serum, gave nothing but negative results.

We repeated with the glycero-aqueous antigen the intradermo-reaction on 16 patients without obtaining any different results.

Hematologic examinations to ascertain modifications of the blood-corpuscles do not bring any useful results in the diagnosis of the disease. The examination of the cerebro-spinal fluid if it fails to give any positive indication is at any rate of value in the differenciation of trypanosomiasis and syphilis.

BURLE DE FIGUEIREDO's (1) and our own results in the examination of cerebro-spinal fluid, intended to establish this diagnosis of syphilis gave similar results:

I) Clear and colourless aspect.

II) Tension frequently increased.

III) NONNE-APELT and ROSS JONES globulin-tests negative.

IV) No increase of any kind of leucocytes.

V) WASSERMANN reaction negative.

The demonstration of trypanosomes in the circulation of patients of the chronic forms of CHAGAS's disease is of great scientific interest. We will consequently end up by giving some clinical data of five cases in which we were able to accomplish this demonstration.

Obs. 1. — Timotheo Carvalho, 35 years, married. mulatto, resident in Lassance (Lavado), State of Minas Geraes This case, of the cardiac form, will be described in detail in another work. On Jan. 11th 1923 two guinea-pigs were inoculated each one with 10 c.c. of blood-plasm concentrated as was described above. One of them died two days later for some other reason. Repeated, almost daily examination of the blood of the other guinea-pig revealed trypanosomes on February the 11th 1923.

Obs. 2.—America, registration nº. 106, entered Hospital Oswaldo Cruz on Sep. 20th 1922, Brazilian, from Contria, State of Minas Geraes, 26 years.

Appearance of a child of 10—12 years. She does not give any information or produce any articulate sound. Face symmetric; forehead small, smooth and without wrinkles; saddle-nose. Fairly developed goitre, the right lobule orange-sized the middle one slightly smaller and the left one with about three centimetres in diameter. No genital or axillary hair. Thorax proportionately developed; mammary glands very undeveloped.

Height: 115 cm; height of chin: 96cm; height of manubrio-sternal fork 92 cm; umbilicus 64; pubis: 53.

Antero-posterior cephalic diameter 17,7; cephalic transverse 14,7; naso-ini-

(1) Unpublished work.

on arch 1,5; bi-auricular 11,0; bigonion 8,5.

Weight 23kg. 100.

Adipose and muscular tissues little developed. Skin of a brown colour with vaccine-scars on the right arm. Plantae of foot and palms of hands damp. Submaxillary, cervical, epithrochlean, inguinal and crural lymphatic glands palpable.

Mucous membranes normal. Tongue with all its movements; teeth, good, the two upper canines implanted outside the alveolar line. Palatine vault very little concave.

Intelligence rudimentary, patient does not appear to understand most of what is said to her; injunctions are sometimes obeyed but with difficulty. She understands mimicry to a certain extent; there does not seem to be any trouble of the affectiviity; only with difficulty can the memory be tried.

In two guinea-pigs inoculated with 10 c.c. of blood each on March 24 th 1923, *Trypanosoma Cruzi* was detected on April 20th 1923. WASSERMANN reaction: blood, positive (strongly); cerebro-spinal fluid, negative.

Obs. 3 — José M. S., Hospital Oswaldo Cruz, register nº. 97, 12 years, brazilian, resident at Muquem (Lassance), State of Minas Geraes, black.

Backwardness of development: no hairs on face and body. Face slightly asymmetric, deviation towards left. Teeth good well implanted set. Goitre: hypertrophy of the three lobules of the thyroid: the middle one the size of a fowl's egg, the left one a little bigger, the right one the size of an olive. State of nutrition passable. Thorax with good conformation.

When walking this patients stoops, bringing at the same time his legs half bent over, while he sets his feet on the ground in such a way that weight of the body is placed on the tips of the feet while the heels are hardly supported. When he stands his legs still remain slightly bent. Intelligence rudimentary. He hears fairly well mostly without understanding what is said. He answers always by nodding as if acquiescing. No articulate speech.

Multiple lymphadenitis, including epitrochlean glands, which are the size of a pea. Plantae of feet and palms of hands dampened by sweat.

WASSERMANN reaction in cerebro-spinal fluid: negative.

Obs. 4.—Bemvindo S. M., reg. nº. 162, entered Hospital on February 11th and left on March 5th, 43 years, married, Lassance. He has seven brothers, 3 of which have goitres. Since two years he feels tiredness, «slackness», general ill-feeling, sluggishness, somnolence.

General aspect good, good conformation ,fairly good state of of nutrition, well developed muscles. Inflamed epitrochlean, axillary and inguinal glands. Slight oedema of the lower limbs. Face symmetric. He has on the tongue a scar from a wound inflicted by the horns of a bull.

Thorax well conformed. Respiratory apparatus normal.

Pulse: 75 beats per minute, while seated. Frequent extrasystoles. Heart: mesosystolic murmur audible at base; 1rst heart-sound muffled and prolongued; 2nd reduplicated. Increased volume of the heart evinced by radioscopy and percussion.

Abdomen flaccid: spleen neither palpable nor demonstrable by percussion; liver limited above by the 7th rib; inferior margin perceptible on the costal ridge. Reflexes of pupil to light at a distance and consensual. WASSERMANN reaction in the blood: negative. Complement-fixation: positive. 2 guinea-pigs inoculated with 10 c.c. of blood on Feb. 26th 1922, showed trypanosomes on March 24th 1923.

Obs. 5.—Jeremias M. entered on Feb. 11th 1923, left on March 31rdt, reg. nº 161, 46 years, Brazilian, resident at Lassance, State of Minas Geraes. Diagnosis: Cardiac form of CHAGAS' disease.

He has suffered 16 years from rheumatism, with more or less frequent crises. Constant diarrhœa, colics, gastralgia independent of diet, head-ache.

Ill-nourished and little muscular subject. Face emaciated and asymmetric with slight deviation to the right of the lips where there are deep wrinkles. Mouth with normal mucous membrane, bad teeth; inability to whistle on account of deficiency of teeth. No increase of the thyroid. Thorax symmetrical, without anomalies. Flaccid abdomen. Limbs with good proportions. Inguinal glands palpable.

Respiratory apparatus normal.

Liver from the 6th rib to the costal margin.

Cutaneous, tendinous and pupillary reflexes normal.

Circulation: oppression, spontaneous palpitation, sensations of arrhythmia. Slight œdema of lower limbs. Insomnia. No increase or retraction of praecordium. Pulse weak, of middle size, slightly irregular, arrhythmic: frequent extra-systoles. Maximal Tension 13,5, minimal 7 (Tensiophone of Vacquez). Apex at 5th intercostal space, 2 cm. below papilla, in the mammilary line at 10 cm: from the median line. Right margin at 3 cm. from the median line, superior margin at 3rd rib: height 7,8.

First heart-sound at apex muffled and drawn-out: at tricuspid focus, ditto; second sound reduplicated at aortic and pulmonary foci, less muffled. First heart sound dragged coincides with a muffled murmur most easily perceptible at apex.

WASSERMANN reaction in blood, negative. Complement-fixation test: positive. Inoculation of 10 c.c. of blood in guinea-pigs on February 26th 1923 demonstrated Trypanosoma Cruzi on April 21rst.

Explanation of Plates.

Fig. 1—Electrocardiogram of Bemvindo (Lead 1, T. 1/50.) CHAGAS' disease cardiac form *Trypanosoma cruzi* appeared in the blood of the guinea-pig inoculated with patient's blood. Complement-fixation test positive.

Fig. 2—Electrocardiogram with lead II, T. 1/50. Same patient as in fig. 1.

Fig. 3—Electrocardiogram of Timotheo (Lead II, T. 1/25). Cardiac form of CHAGAS' disease. Inoculation of blood in a guinea-pig gave positive results. Complement-fixation test positive.

Fig. 4—Electrocardiogram with lead II of Geremias, patient of the cardiac form of CHAGAS' disease. Inoculation of blood in guinea-pig gave positive results. Complement-fixation test positive.

Fig. 5—Electrocardiogram with lead II of Geremias, same patient as in fig 4.

Fig. 6—Electrocardiogram with lead III of Geremias, same patient as in fig. 4.

Fig. 7—Electrocardiogram with lead III, same patient as in Fig. 4.

Fig. 8—Reg. 97. José. CHAGAS' disease. Trypanosoma in blood ascertained by inoculation. Complement-fixation test positive.

Fig. 9—Reg. 97. José. Group of members of José's family. In this photograph the goitre is seen better than in fig. 8.

Fig. 10—Reg. 106. America, Case of CHAGAS' disease in which inoculation in guinea-pigs gave positive results. Complement-fixation test positive.

As reacções de Wassermann e de Sachs-Georgi na Lepra

pelo

Dr. Antonio Eugenio de Arêa Leão.

(Do Instituto Oswaldo Cruz)

A reacção de WASSERMANN no sôro sanguineo dos leprosos, tem sido assumpto de pesquisas desde 1906, e a maioria dos auctores acredita ser ella positiva em grande porcentagem no sôro daquelles doentes, mormente na fórma tuberculosa da molestia.

EITNER (1906), WECHSELMANN e MEYER (1908), LEVADITI e YAMANOUCHI (1908), foram os primeiros a verificar a reacção de WASSERMANN positiva no sôro sanguineo dos leprosos.

JEANSELME (Presse Medicale, 1912, p. 269) examinando o sôro de leprosos e syphiliticos com as reacções de EITNER e WASSERMANN chegou ao seguinte resultado: em 40 sôros de syphiliticos em plena actividade da molestia, 40 vezes a reacção de WASSERMANN foi positiva e 33 vezes deu positiva a reacção de EITNER. Assim obteve 85,5 % de reacções positivas no sôro de syphiliticos, usando o antigeno de EITNER.

No homem são, ou no syphilitico em latencia, as duas reacções, de WASSERMANN e de EITNER, foram negativas em 100 % dos casos.

A reacção de EITNER quando positiva nos leprosos se acompanha muitas vezes de WASSERMANN positivo. Assim, de seis sôros leprosos examinados por JEANSELME, tres apresentaram as duas reacções, de EITNER e WASSERMANN, positivas e os outros tres negativas; um outro examinado no periodo apyretico da lepra e no decurso de uma «*poussée*» maculosa, deu uma reacção de EITNER positiva e reacção de WASSERMANN negativa. Conclue, então, JEANSELME, que os dois antigenos, de EITNER e de WASSERMANN, podem um e outro desviar o complemento, tanto com o sôro syphilitico como com o sôro leproso.

Mas a sensibilidade da reacção é maior na lepra com o antigeno de EITNER e na syphilis com o antigeno de WASSERMANN. Disso resulta que as substancias existentes nos sôros, leproso e syphilitico, sobre as quaes agem estes dois antigenos, têm propriedades biologicas visinhas, mas não identicas.

Quando os sôros syphiliticos contêm muitas reaginas syphiliticas, qualquer antigeno, mesmo de fraco poder fixador, desvia o complemento; agora nos sôros com poucas reaginas syphiliticas só os antigenos muito sensiveis as podem descobrir. Este facto se verifica quando se pratica a reacção com antigenos leprosos e syphiliticos de valores differentes.

Os sôros leprosos muito sensiveis o são tambem com os antigenos syphiliticos mediocres.

Um facto interessante assignalado por JEANSELME é que a reacção de WASSERMANN desapparece no sôro dos syphiliticos submettidos ao tratamento especifico, emquanto o sôro leproso em nada se altera com o tratamento anti-syphilitico. Isso constitue, não resta duvida, um meio de afastar a syphilis nos casos examinados; mas nem sempre o desapparecimento da reacção no sôro sanguineo dos syphiliticos se dá com rapidez, embora seja empregada a therapeutica anti-syphilitica mais energica. A reacção por vezes se conserva positiva, em nada diminuindo de intensidade, independente do tratamento.

PHOTINUS e MICHAELIDES (Lepra, v. XII, f. 4, 1912, pp. 217—219), praticaram a reacção de WASSERMANN em 204 sôros leprosos; destes, 115 reagiram positivamente e 89 foram negativas. A maior porcentagem de reacções positivas foi observada na fórma tuberculosa da lepra (75,9%), com 21,4% de reacçoes negativas; na fórma nervosa 35 % de positivas e 62 % de reacções negativas; na fórma mixta 75% de reacções positivas e 25% de reacções negativas.

Como antigeno foi usado o figado de feto heredo-syphilitico e o extracto alcoolico de lepromas.

MATHIS e BONJEAN (Bull. Soc. Path. exot., 1915, p. 225), examinaram o sôro de leprosos do TONKIN, usando a technica do Instituto Pasteur de Lille, que é a technica de CALMETTE e MASSOL (doses crescentes de alexina e quantidade fixa de antigeno).

Como antigeno usaram extracto alcoolico de varios figados de feto heredo-syphiliticos, diluido em agua physiologica, de maneira que 0,5 c.c. da diluição continha 5 unidades de antigeno.

Nos 41 sôros leprosos examinados obtiveram 40 reacções nitidamente negativas; o unico caso restante, onde a reacção foi positiva, tratava-se de um leproso syphilitico. Verificaram as propriedades anticomplementares do sôro leproso, alguns absorvendo por si só 4 a 5 unidades de alexina.

Chegam á conclusão que a reacção de WASSERMANN é constantemente negativa na lepra.

SLATINEANU e DANIELOPOLU (C. R. S. Biol., v. 1, 332), experimentaram a fixação do complemento no sôro dos leprosos, usando como antigeno a lecithina de ovo da casa Kahlbaum de Berlim, emulsionada em agua physiologica na proporção de 1 % e addicionada de acido phenico. Com esse antigeno examinaram o sôro de 21 leprosos, dos quaes 10 fixaram completamente a alexina; em dois casos a reacção de fixação foi fraca e as 9 restantes foram negativas. No liquor de 20 leprosos examinados não encontraram a minima fixação.

Observaram mais, que os resultados não concordam, quando se usam como antigenos a lecithina e um antigeno syphilitico; havendo sôros que fixam o complemento quando usada a lecithina e deixam de fixal-o em presença de um antigeno syphilitico e vice-versa.

Chegam á conclusão de que é grande a porcentagem de reacções de WASSERMANN positivas no sôro de doentes de lepra, usando a lecithina como antigeno, a fixação no liquor sendo nulla com esse mesmo antigeno.

RECCIO (Sanidad y Beneficiencia, 1909, p. 277) examinaram 20 leprosos 14 com manifestações cutaneas, 4

de lepra trophoneurotica e dois diagnosticados de syringomyelia; (*) dos quatro casos de lepra trophoneurotica, um deu reacção fracamente positiva, outro duvidosa e os restantes negativas. Na syringomyelia a reacção foi negativa.

PASINI (L'Ospedale Maggiore, t. IV, 1909) examinou o sôro, o liquor e a urina de 3 leprosos com varios antigenos (extracto de nodulo leproso, figado e baço heredo-syphiliticos e suspensão de lecithina). Conclue que a reacção de WASSERMANN na lepra não é uma reacção biologica especifica, mas uma reacção physicochimica de natureza ainda indeterminada, pois é positiva tanto com os antigenos usados para a syphilis como com o extracto de lepromas. A urina dá quasi sempre resultados positivos, que são sem valor, porque nos individuos normaes tambem dá resultados positivos em 80 % dos casos.

EHLER e BOURRET ((Bull. Soc. Path. exot., t. 11, 1909, p. 520), praticaram a reacção de WASSERMANN no sôro de 47 leprosos (9 de lepra tuberculosa, 6 de lepra mixta, 29 de lepra nervosa e 3 duvidosos) empregando como antigeno o coração de cobaya normal.

Obtiveram na lepra tuberculosa uma reacção positiva completa e oito positivas parciaes em graus diversos; na lepra mixta 6 reacções positivas parciaes; na lepra nervosa 2 reacções positivas completas, 25 parcialmente positivas e 2 negativas.

Não encontrou explicação para a differença observada no grau da reacção, nem na fórma, na antiguidade ou no estado de evolução da molestia. Praticando a reacção novamente um mez após a primeira sangria em 14 dos seus doentes, cinco vezes a fixação obtida não coincidiu com a primeira reacção.

(*) Só encontraram uma reacção negativa nos 14 casos de manifestações cutaneas da molestia, sendo positivas todas as restantes.

FRUGONE e PISANI (Berl. Klin. Woch., 1909, p. 1530—1531), examinaram 11 sôros leprosos com differentes antigenos (figado de feto syphilitico, nodulos leprosos contendo bacillos, sarcoma, carcinoma, tuberculina, emulsão de B. de KOCH, sôro antituberculoso de HOECHST). Em mais da metade dos casos encontraram fixação do complemento com o extracto de nodulos leprosos; não houve pelo contrario nenhuma fixação com este antigeno e o sôro normal ou proveniente de outra molestia. Obtiveram reacções de WASSERMANN positivas em alguns dos sôros examinados sem que os doentes tivessem o menor symptoma de syphilis.

Resultados positivos tambem foram observados com outros antigenos, como a tuberculina, o B. de KOCH ou o extracto de tumores e isso nos leprosos que não eram nem tuberculosos, nem portadores de neoplasma.

ELIAS BERG (Deutsch. mediz. Woch., 1909., p. 1922—1923), em 31 doentes de lepra tuberculosa, obteve a reacção de WASSERMANN positiva 25 vezes (80,6 %); em 190 casos de lepra nervosa, só tres deram reacções positivas (15,8 %). Notou ainda o poder impediente do sôro leproso na dóse de 0,4; facto não observado geralmente para os outros sôros.

AKERBERG, ALMKWIST e JUNDELL (Lepra, t. IX, f. 3, 1910), affirmam que o sôro leproso só desvia o complemento em presença de um antigeno syphilitico em 15 % dos casos.

BABES (II Conference de la lepre, t. 111, p. 131), acha que a lepra tuberculosa, dá melhor que a fórma nervosa da molestia, reacções de WASSERMANN positivas, usando-se como antigeno o figado de feto heredo-syphilitico ou o coração de cobaya.

MEYER (II Conference de la lepre, t. 111, p. 334), affirma que a reacção de WASSERMANN é positiva em 70 % dos casos de lepra tuberculosa. A fixação do

complemento se dá ainda muito mais vezes na lepra tuberculosa, quando se usa a tuberculina como antigeno.

O diagnostico differencial entre a lepra e a syphilis deve ser feito com a tuberculina.

HANN e GRIJNS (Geneesk. Tijdschr. Med. Indic, t. L, f. 4, 1910), de 18 casos de lepra examinados (anesthesica, tuberculosa e maculo-tuberculosa), sete desviaram o complemento, nove reacções negativas e seis duvidosas.

BABES (Zeitschr. f. Imm. I. Orig., t. VII, 1910, p. 578—623), affirma que a maior parte dos sôros leprosos fixa o complemento com um antigeno syphilitico, mormente quando se trata da fórma tuberculosa da molestia; na fórma anesthesica a reacção positiva se observa muito raramente. Pelo contrario o sôro syphilitico não fixa o complemento, senão muito raramente, em presença de um antigeno leproso.

JOLTRAIN (Nouvelles Methodes de Sero-Diagnostic, p. 245), obteve 14 vezes a reacção de WASSERMANN positiva em 22 leprosos que examinou. Assim se exprime JOLTRAIN sobre os sôros leprosos: «Les divergences qui existent entre ces différents auteurs nous paraissent surtout provenir de ce fait que le sérum des lépreux a certainement une composition trés spéciale et sa richesse en certaines substances, protéines ou globulines, fait que, très souvent, il est fixant de lui-même; nous l'avons, pour notre part, trouvé avec ces propriétés dans une proportions de 26 p. 100.

«Un autre caractére important du sérum des lépreux, c'est qu'il est polyfixant, et il semble, à ce point de vue, que tous les auteurs soient d'accord. Il donne, en effet, la réaction de BORDET et GENGOU avec un très grand nombre d'antigènes différents. Nous l'avons vu dévier le complément en employant comme antigènes l'extrait alcoolique de foie syphilitique un extrait de carcinome, d'épithelioma, de mycosis fongoide, de tuberculome, enfin avec certains lécithines, la tuberculine, le *Sporotrichum beurmanni,* l'actinomyces et certains microbes comme le pneumocoque et le bacille d'EBERTH».

———

A maioria dos autores concorda, pois, que a reacção de WASSERMANN é positiva na lepra em uma porcentagem bem grande.

As propriedades poly-fixantes do sôro leproso, que o fazem desviar o complemento em presença dos antigenos os mais diversos, alliadas ao seu poder impediente natural, explicam provavelmente a grande percentagem de reacções de WASSERMANN positivas na lepra. Isso, entretanto, não tira de modo nenhum o valor da reacção de WASSERMANN na syphilis. Não sendo embora especifica, antigenos e anticorpos verdadeiros, mas reacções que se passam entre lipoides do antigeno e os existentes no sôro, o certo é que na syphilis ella é de uma frequencia extraordinaria.

Na forma tuberculosa da lepra que dá, em maior percentagem, reacção de WASSERMANN positiva, o diagnostico differencial com a syphilis não offerece difficuldade e o exame microscopico dos nodulos mostrará certamente a presença do B. de HANSEN, sendo este muito constante nas lesões cutaneas desta molestia e a sua pesquisa de facil execução.

A prova therapeutica de JEANSELME para afastar a syphilis, tratando os pacientes com os medicamentos antisyphiliticos e observando nestes o desapparecimento da reacção de WASSERMANN e a sua permanencia nos casos de lepra, não pode merecer confiança absoluta. Ha casos de syphilis pura e WASSERMANN-resistentes, mantendo-se a reacção com o mesmo grau de fixação independente do tratamento o mais ener-

gico. Infelizmente estes casos não são raros.

Assim a prova therapeutica poderá ser tentada, não se devendo, entretanto, della esperar tudo.

O desvio do complemento com o extracto de leproma, não é tambem uma prova segura de diagnostico differencial das duas molestias, porque este antigeno desvia ás vezes o complemento com o sôro syphilitico.

Assim só a clinica poderá resolver a questão, auxiliada nos casos possiveis da pesquisa directa do bacillo nas lesões.

———

Tivemos occasião de praticar as reacções de WASSERMANN e SACHS-GEORGI no sôro sanguineo de 50 leprosos internados do Hospital dos Lazaros do Rio de Janeiro, a cargo do Professor Dr. FERNANDO TERRA, que nos permittiu gentilmente taes pesquisas e a quem somos muito grato por tudo. Destes 50 doentes, 8 eram de lepra maculosa; 233 de lepra tuberculosa; 17 de lepra nervosa; 1 de lepra mixta e 1 de lepra maculo-anesthesica.

Na reacção de WASSERMANN usamos os seguintes antigenos: figado de feto heredo-syphilitico, coração humano cholesterinado, coração de boi cholesterinado, lipoides insoluveis na acetona, segundo o processo de NOGUCHI, lipoides insoluveis na acetona, segundo a technica de BORDET e o extracto ethereo de LESSER.

Todos estes antigenos experimentados largamente com sôros syphiliticos sempre se mostraram muito sensiveis.

O poder impediente de todos elles era previamente dosado.

Os sôros leprosos eram examinados, no mesmo dia da sangria, para evitar que augmentassem as suas qualidades impedientes, e quando o exame não podia ser feito no mesmo dia decantavamos o sôro que era em seguida inactivado em banho-maria a 56ºC., durante 15 minutos. Feito isto os sôros eram guardados na geladeira e a reacção feita no dia seguinte.

O complemento usado na reacção era o sôro fresco de cobaya normal, retirado no mesmo dia da reacção para que nada perdesse do seu poder. Para termos um complemento mais homogeneo sangravamos 10 á 20 cobayas.

O sôro hemolytico usado foi o de coelho para os globulos vermelhos de carneiro; sôro este de grande poder hemolytico, hemolysando em meia hora 1 c.c. de globulos de carneiro a 5 %, na diluição de 1 para 6000. Utilizavamos sempre na reacção 3 a 4 dóses hemolyticas, que era o sufficiente para vencer o poder impediente natural do sôro leproso.

Os globulos de carneiro lavados varias vezes na agua physiologica eram emulsionados nesta na proporção de 5 %.

A technica usada foi a seguinte: sete tubos para cada reacção, cada um delles recebia 0,2 de sôro leproso, em seguida 0,2 de cada antigeno, a excepção do ultimo que ficava como testemunho do sôro não recebendo antigeno. (*) Completavamos o volume de 1 c.c. com agua physiologica, em todos os tubos e juntavamos emfim 1 c.c. de complemento (sôro de cobaya diluido, em agua physiologica, a 1 para 10).

A quantidade de 1 c.c. de complemento usada na reacção, era deste modo em excesso e sufficiente para vencer o poder impediente natural do sôro leproso.

Os tubos assim preparados, representando, cada um, um antigeno diffe-

(*) Esta dose de 0,2 dos diversos antigenos empregados, representava quatro a cinco unidades anti genicas e para obtel-a os antigenos eram dosados préviamente com sôros de individuos syphiliticos e empregados em diluição tal que o volume de 0,2 contivesse as unidades antigenicas referidas.

rente, eram levados ao banho-maria á 37°C. e ahi soffriam a primeira incubabação durante 1 hora. No fim deste tempo juntavamos os globulos de carneiro sensibilizados com 3 a 4 unidades hemolysantes.

A leitura da reacção era feita no fim de uma hora, quando todos os tubos testemunhos se achavam completamente hemolysados.

A hemolyse se passa vagarosamente quando se junta o systema hemolytico; o sôro leproso mesmo recente, isto é, colhido e examinado no mesmo dia tem qualidades impedientes bem accentuadas, e foi este o motivo que nos levou a prolongar o tempo para a leitura final da reacção.

Comparavamos então o grau de fixação com os 6 antigenos usados e os resultados damos em um quadro áparte, designando pelo maior ou menor numero de cruzes a maior ou menor fixação, e finalmente um traço horizontal onde aquella era nulla. Nelle se observam com facilidade como se comportam os differentes antigenos usados em presença do sôro leproso. Assim é que os antigenos que dão maior fixação com o sôro leproso são: o figado de feto heredo-syphilitico, coração humano e coração de boi cholesterinados. Os antigenos de lipoides insoluveis na acetona, preparados, quer pelo processo de NOGUCHI ou o de BORDET, fixam menos, e o antigeno de LESSER é de todos o que dá menor fixação.

Estes antigenos experimentados com sôros syphiliticos todos se comportavam quasi identicamente; mas aqui, como se vê no quadro, ha uma certa discordancia entre elles no grau de fixação.

A percentagem maior de reacções de WASSERMANN positivas é encontrada nas fórmas tuberculosas e maculosas da molestia, mormente na ultima. Todos os doentes por nós observados, não tinham na sua historia clinica a syphilis e a maioria delles, tratados com 914 não apresentavam melhora e nada influia a administracção do medicamento nos resultados da reacção.

Na lepra nervosa a percentagem de reacções de WASSERMANN positivas é muito menor e isso tem sido verificado por todos os auctores.

———

A reacção de precipitação de SACHS-GEORGI, ultimamente aconselhada por estes auctores para o diagnostico da syphilis, é nesta molestia de uma concordancia muito grande com a reacção de WASSERMANN, como verificámos em trabalho anterior; estudando comparativamente 2000 casos, procurámos verificar se a reacção de SACHS-GEORGI era tambem, como a reacção de WASSERMANN, positiva em alta dose no sôro leproso.

Seguimos, praticando esta reacção, a mesma technica dos auctores, usando como antigeno o coração de boi extrahido com alcool na proporção de 1 para 5. Este extracto nos deu os melhores resultados com os sôros syphiliticos.

O sôro leproso era diluido em agua physiologica a 8,5 p. 1000 na proporção de 1 para 10. A 1 c.c. do sôro assim diluido juntavamos 0,5 do antigeno, tambem diluido em agua physiologica á 1 para 6.

Os tubos permaneciam na estufa á 37°C., durante 24 horas, quando então os resultados eram lidos.

Os resultados são mais ou menos identicos aos da reacção de WASSERMANN, havendo entretanto um maior numero de reacções negativas com a reacção de SACHS-GEORGI.

Com a reacção de WASSERMANN, o maior numero de reacções positivas é dado pelas fórmas tuberculosa e maculosa da lepra, a fórma nervosa desviando o complemento em muito menor numero.

1—F., sexo masculino, 40 annos de molestia. Lipra nervosa. Reacção de WASSERMANN: positiva. Reacção de SACHS-GEORGI: negativa.

2—J. de M., 39 annos, 20 annos de molestia. Lepra nervosa. Reacção de WASSERMANN: negativa. Reacção de SACHS-GEORGI: negativa.

3—A., 42 annos, 7 annos de molestia. Lepra nervosa. Reacção de WASSERMANN: negativa. Reacção de SACHS-GEORGI: negativa.

4—M., 24 annos, 5 annos de molestia. Lepra tuberculosa. Reacção de WASSERMANN: positiva. Reacção de SACHS-GEORGI: negativa.

5—A., 38 annos, 6 annos de molestia. Lepra maculosa. Reacção de WASSEMANN: positiva. Reacção de SACHS-GEORGI: positiva.

6—J. V., 27 annos, 6 annos de molestia. Lepra maculosa. R. de W. : positiva. R. S. G. : positiva.

7—R. P., 33 annos, 2 annos de molestia. Lepra maculosa. R de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

8—V. P., 30 annos, 1 anno de molestia. Lepra nervosa. R.de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

9—N. V., 30 annos, 7 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G.: negativa.

10—J. N., 28 annos, 10 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W.: positiva. R. de S. G: negativa.

11—A. L., 20 annos, 3 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

12—C. S., 15 annos, 3 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

13—J. P., 34 annos, 17 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. .: positiva. R. de S. G. : positiva.

14—B. L., 29 annos, 10 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

15—M. L., 25 annos, 5 annos de molestia. Lepra maculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

16—E. N., 50 annos, 5 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : negativa.

17—A. D., 15 annos, 1 anno de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

18—J. P., 28 annos, 16 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

19—M. G., 65 annos, 12 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

20—J. M., 58 annos, 6 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

21—J. C., 45 annos, 7 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

22—Z., 39 annos, 12 annos de molestia. Lepra maculo-anesthesica. R. de W. : positiva. R. de S. G. : negativa.

23—L. J., 43 annos, 11 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

24—J. R., 32 annos, 6 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

25—S. de A., 25 annos, 5 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

26—L. de S., 34 annos, 14 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

27—J. de S., 49 annos, 20 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G.: positiva.

28—B. M., 15 annos, 2 annos de molestia. Lepra maculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : negativa.

29—J. S., 30 annos, 7 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

30—V. G., 62 annos, 12 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

31—R. A., 38 annos, 2 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : negativa.

32—P. P., 59 annos, 4 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

33—J. M., 18 annos, 6 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

34—J. de A., 62 annos, 15 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

35—C. S., 24 annos, 4 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : negativa.

36—G. G., 57 annos, 34 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

37—R. L., 32 annos, 13 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

38—F. R., 38 annos, 9 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : negativa.

39—J. R., 31 annos, 5 annos de molestia. Lepra maculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : positiva.

40—J. B., 25 annos, 8 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : pova. R. de S. G. : positiva.

41—J. M., 40 annos, 13 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : positiva.

42—J. M., 16 annos, 9 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

43—J. M., 11 annos, 1 anno de molestia. Lepra maculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

44—G. B., 13 annos, 4 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

45—J. M., 14 annos, 2 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : positiva. R. de S. G. : negativa.

46.—M. F. G., 15 annos, 4 annos de molestia. Lepra maculosa. R. de W.: poositiva. R. de S. G.: negativa.

47—A. C., 11 annos, 5 annos de molestia. Lepra tuberculosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

48—M. F. R., 59 annos, 9 annos de molestia. Lepra mixta. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

49—H. L., 35 annos, 12 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

50—B. A., 32 annos, 4 annos de molestia. Lepra nervosa. R. de W. : negativa. R. de S. G. : negativa.

	Figado de feto	Coração humano	Coração de boi	Antigeno de Noguchi	Antigeno de Bordet	Antigeno de Lesser
1	+	++	++	+	+	—
2	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—
4	+	++	++	—	++	—
5	+++	+++	+++	—	+++	—
6	++++	++++	++++	+	++++	+
7	++++	++++	++++	+	++++	—
8	++	++	++	+	++	+
9	—	—	—	—	—	—
10	—	+++	+++	—	++	—
11	—	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—
13	++++	++++	++++	++++	++++	++++
14	++	+++	+++	—	++	—
15	++++	++++	++++	++++	++++	++++
16	+	+++	++++	—	—	—
17	—	—	—	—	—	—
18	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
20	++++	++++	++++	++++	—	—
21	++++	++++	++++	++++	—	—
22	—	++	+++	—	—	—
23	—	—	—	—	—	—
24	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25	++++	++++	++++	++++	++++	++++
26	—	—	—	—	—	—
27	++	++++	++++	++	++	—
28	++++	++++	++++	—	—	—
29	—	—	—	—	—	—
30	—	—	—	—	—	—
31	+	++++	++++	—	—	—
32	—	—	—	—	—	—
33	—	—	—	—	—	—
34	+++	+++	+++	+++	+++	—
35	—	++	++	—	—	—
36	—	—	—	—	—	—
37	+++	+++	+++	+++	+++	—
38	—	++	++	—	—	—
39	+++	+++	+++	+++	+++	+++
40	+++	+++	+++	+++	—	—
41	—	—	—	—	—	—
42	—	—	—	—	—	—
43	—	—	—	—	—	—
44	—	—	—	—	—	—
45	+	++	++	++	—	—

	Figado de feto	Coração humano	Coração de boi	Antigeno de Noguchi	Antigeno de Bordet	Antigeno de Lesser
46	++	++	++	—	—	—
47	—	—	—	—	—	—
48	—	—	—	—	—	—
49	—	—	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—

REACÇÃO DE SACHS-GEORGI.

No. 1 Negativa.
« 2 Negativa.
« 3 Negativa.
« 4 Negativa.
« 5 Positiva.
« 6 Positiva.
« 7 Positiva.
« 8 Positiva.
« 9 Negativa.
« 10 Negativa.
« 11 Negativa.
« 12 Negativa.
« 13 Positiva.
« 14 Positiva.
« 15 Positiva.
« 16 Negativa.
« 17 Negativa.
« 18 Negativa.
« 19 Negativa.
« 20 Positiva.
« 21 Positiva.
« 22 Negativa.
« 23 Negativa.
« 24 Positiva.
« 25 Positiva.
« 26 Negativa.
« 27 Positiva.
« 28 Negativa.
« 29 Negativa.
« 30 Negativa.
« 31 Negativa.
« 32 Negativa.
« 33 Negativa.
« 34 Positiva.
« 35 Negativa.
« 36 Negativa.
« 37 Positiva.
« 38 Negativa.
« 39 Positiva.
« 40 Positiva.
« 41 Positiva.
« 42 Negativa.
« 43 Negativa.
« 44 Negativa.
« 45 Negativa.
« 46 Negativa.
« 47 Negativa.
« 48 Negativa.
« 49 Negativa.
« 50 Negativa.

CONCLUSÕES.

1.—A reacção de WASSERMANN na lepra é positiva muitas vezes; 50 % com os antigenos de figado de feto heredo-syphilitico, coração humano e coração de boi cholesterinados; 32% com os antigenos de lipoides insoluveis na acetona (processo de NOGUCHI ou de BORDET); e 14 % com o antigeno de LESSER (extracto ethereo de orgão).

2.—O grau de fixação é muito variavel com os diversos antigenos usados. Entretanto, são os antigenos preparados com figado de feto heredo-syphilitico e coração de boi cholesterinado, os que dão maior fixação.

3.—O maior numero de reacções de WASSERMANN positivas é dado pelas fórmas maculosa (87,5 %) e tuberculosa (65,2 %) da lepra. A fórma nervosa da molestia figura com uma percentagem de 17,7 % de reacções positivas.

4.—A causa da fixação do complemento pelo sôro leproso em presença de um antigeno syphilitico, está certamente nas qualidades poly-fixantes daquelle sôro.

5.—A reacção de SACHS-GEORGI na lepra dá uma percentagem total de 36 % de reacções positivas.

6.—A maior percentagem de reacções de SACHS-GEORGI positivas na lepra é dada pela fórma maculosa da molestia (62,5 %), vindo depois a fórma tuberculosa (39,2 %). A fórma nervosa dá uma percentagem de 17,7 % de reacções de SACHS-GEORGI positivas.

The Wassermann and Sachs-Georgi tests in Leprosy.

Dr. Antonio Eugenio de Arêa Leão.

(Of the Instituto Oswaldo Cruz)

The WASSERMANN test on the blood serum of lepers has been a subject of research ever since 1906 and the greater part of the writers indicate positive results in a great percentage of the cases especially in the tubercular form of the disease.

EITNER (1906), WECHSELMANN and MEIER (1908), LEVADITI and YAMANOUCHI (1908) were the first to observe positive WASSERMANN reactions the blood serum of lepers.

JEANSELME (Processe Médicale, 1912, p. 269) upon examining the serum of lepers and of syphilitic patients by the EITNER and WASSERMANN tests arrived at the following conclusions: of 40 patients with syphilis in an active stage of the disease he obtained 40 positive WASSERMANN reactions and 33 positive, has often a positive WASSERphilis, he observed 85,5 % of reactions to be positive with the EITNER antigen.

In health and in patients with latent syphilis both reactions, of WASSERMANN and of EITNER, were negative in 100 % of cases.

In lepers the EITNER test, when positive, has often a positive WASSERMANN reaction as its companion. Thus, out of six leprous sera examined by JEANSELME three gave both reactions positive and three gave both of them negative; another serum examined in the apyretic period and in the course of a macular eruption, gave a positive EITNER and a negative WASSERMANN reaction. JEANSELME therefore concludes that both antigens, of EITNER and of WASSERMANN, are able to deviate the complement with a syphilitic or a leprous serum. But, in leprosy, the sensitiveness of the reactions is greater with the EITNER and in syphilis with the WASSERMANN antigen. From this one must draw the conclusion that the active substances of the sera on which these two antigens act have similar but not identical biological properties.

When syphilitic sera contain many syphilitic reagins, any antigen, even if of small fixing power, will deviate the complement, whereas in sera with few

syphilitic reagins, these will only be detected by very sensitive antigens. This fact can be ascertained when the test is carried out with leprosy and syphilitic antigens, of different values. Very sensitive leprous sera are also sensitive to medium-class syphilis antigens.

An interesting fact pointed out by JEANSELME is that the positive WASSERMANN reaction disappears from the serum of syphilitic patients subjected to specific treatment, whereas the serum of lepers does not suffer any modification through anti-syphilitic treatment. This might certainly constitute a means of excluding syphilis in the cases examined; but, the disappearance of the reaction does not always produce itself with rapidity, even with the most energetic anti-syphilitic therapeutics. Sometimes the reaction will maintain itself positive without diminishing in the slightest degree, quite independently of the tratment.

PHOTNUS and MICHAELIDES (Lepra, v. XII, nr. 4, 1912, p. 217—219) carried out WASSERMANN tests in 201 leprous sera; out of these 115 reacted positively and 89 were negative. The greatest percentage of positives was observed in the tubercular form of leprosy (75,9 %) with 21,4 % negative reactions; in the nervous form with 3 % positive and 62 % negative reactions; in the mixed form 75 % positive and 25 % negative reactions. As antigens liver of foetus with hereditary syphilis and alcoholic extract of lepromas.

MATHIS and BONJEAN (Bull. Soc Path. exot., 1915, p. 215) examined sera of lepers from Tonkin, using the technic of the Pasteur Institute of Lille, that is the technic of CALMETTE and MASSOL (increasing doses of alexin and fixed quantity of antigen).

As antigens they employed alcoholic extracts of various syphilitic livers (foetus with hereditary syphilis), diluted in saline solution in such a way as to allow 5 antigen units to 0,5 of solution. Out of 41 sera of lepers tested, 40 fell out clearly negative; the only remaining case, in which reaction was positive, was one of a syphilitic leper. Anticomplementary properties were observed in the lepers sera some of which absorbed alone 4 or 5 units of alexin.

They come to the conclusion that the WASSERMANN test is constantly negative in leprosy.

SLATINEAU and DANIELOPOLU (C. R. S. Biol., vol. 1, 1909, p. 332) tested the complement fixation in sera of lepers, using as antigen the egg-lecithin of KAHLBAUM's in Berlin in a 1 % emulsion in saline solution with phenol (carbolic acid). With this antigen they tested the sera of 21 lepers, out of which 10 fixed alexin completely; in two cases the fixation reaction was weak and in the 9 remainder negative. In the cerebro-spinal fluid of 29 lepers examined they did not observe any fixation at all.

They also observed that results do not agree, when lecithin antigens and a syphilitic antigen are used, as they found sera that fix the complement when lecithin is employed and do not fix it when in the presence of a syphilitic antigen, and vice versa.

They came to the conclusion that the proportion of WASSERMANN posidves in the serum of lepers is big when lecithin is used as antigen, there being no fixation in the cerebro-spinal fluid with the same antigen.

RECCIO (Sanidad y Beneficiencia, 1909, p, 277) out of 20 leprous sera tested (14 with cutaneous manifestations, 4 with trophoneurotic leprosy and 2 cases diagnosed as syringomyelia (*), obtained only one negative reaction out of the first 14; one frankly positive, one doubtful and the remainder negative in

(*) They only found one negative reaction out in the 14 cases of cutaneous manifestations of the disease, the remainder being positive.

the cases of trophoneurotic leprosy. In the cases of syringomyelia negative results were obtained.

PASINI (L'Ospedale Maggiore. V, IV, 1909) tested the serum, cerebro-spinal fluid and urine of 3 lepers with various antigens (extract of leprous nodule, syphilitic liver and spleen and lecithin-suspension). He concludes that the WASSERMANN test in leprosy is not a specific but a physico-chemical reaction of a still unknown nature, since it is positive with the antigens used for syphilis as with the extract of lepromata. The urine almost always gives positive reactions which are valueless since the one of normal persons also gives positive results in 80 % of the cases .

EHLER and BOURRET (Bull. Soc. Path. éxot., v. 11, 1909, p. 520) carried out the test on the sera of 47 lepers (99 with tubercular leprosy, 6 with mixed leprosy, 29 with leprosy of the nerves and 3 doubtful cases) using as antigen normal guinea-pig heart. They obtained in tubercular leprosy one complete positive reaction and eight partial positives of different degress; in mixed leprosy 6 partial positive reactions; in leprosy of the nerves 2 complete positive reactions 25 partial and 2 negative ones.

Neither in the form, age or state of evolution of the disease were they able to find an explanation for the differences of degree of the reaction. Repeating the reaction, one month afterwards on 14 of their patients, 5 times the fixation obtained did not coincide with the first reaction.

FRUGONE and PISANI (Berl. Klin. Woch., 1909, p. 1530—1531) tested 11 sera of lepers with different antigens (syphilitic liver, leprous nodules enclosing bacilli, sarcoma, carcinoma, tuberculin, emulsion of tubercle-bacilli, HOECHST anti-tuberculous serum). In more than half the cases they observed complement fixation with the extracts of leprous nodules; this antigen however gave no fixation with normal sera or sera of patients with another disease. They obtained positive WASSERMANN reactions in some of the sera examined although the patients had not the slightest symptoms of syphilis.

Positive results were also obtained with other antigens, such as tuberculin, tubercle bacilli, or extracts of tumours and this in lepers that were not tuberculous and possessed no neoplasma.

ELIASBERG (Deutsch. mediz. Woch. 1909, p. 1922—1923) out of 31 cases of tubercular leprosy obtained 25 positive WASSERMANN reactions (80,6 %); out of 19 cases of leprosy of the nerves only three gave positive reactions (15,8 %). He also noticed the inhibitory action of leprous serum in the dose of 0,4; a fact not usually observed in other sera.

AKERBERG, ALMKWIST and JUNDELL (Lepra, v. IX, nr. 3, 1910) assert that leprous serum deviates the complement in the presence of a syphilitic antigen only in 15 % of cases.

BABES (11eme. Conférence de la Lepre, v. III, p. 131) believes that the serum of tubercular lepers gives more positive reactions than the serum of the nervous form of the disease, the antigen used being luetic liver or guinea-pig heart.

MEIER (11me. Conférence de la Lepre, v. III, p. 334) asserts that WASSERMANN reaction is positive in 70 % of cases of tubercular leprosy. The fixation of complement also produces itself very often in tubercular leprosy with tuberculin as the antigen. The differential diagnostic between leprosy and syphilis should be carried out with the aid of tuberculin.

HAAN and GRIJNS (Geneesk Tijdschr. Med. Indie., v. L, nr. 4, 1910) out of 18 cases of leprosy examined (anæsthetic, tubercular and maculo-tubercular forms) found that seven deviated the complement with a syphilitic antigen, nine reactions were negative and six doubtful.

BABES (Zeitschr. f. Imm. Oring. v. VII, 1910, p. 578—623) claims that the greater part of leprous sera fixes the complement with a syphilitic antigen, the more so in the tubercular form of the disease; in the anæsthetic form the reaction is very rarely obtained. On the other hand, syphilitic serum does not fix the complement, save very exceptionally, when in contact with a leprosy antigen.

JOLTRAIN (Nouvelles Méthodes de Séro-Diagnostic, p. 245) obtained 14 positive WASSERMANN reactions out of 22 lepers examined. He expresses himself in the following way on the subject: «Les divergences qui éxistent entre ces différents auteurs nous paraissent provenir surtout de ce fait que le sérum des lépreux a certainement une composition très spéciale et sa richesse en certaines substances, protéines ou globulines, fait que très souvent il est fixant lui-même; nous l'avons pour notre part trouvé avec ces propriétés dans une proportion de 26 p. 100.

Un autre caractère important du sérum des lépreux c'est qu'il est polyfixant, et il semble,a ce point de vue, que tous les auteurs soïent d'accord. Il donne, en effet, la réaction de BORDET et GENGOU avec un très grand nombre d'antigènes différents. Nous l'avons vu dévier le complément en employant comme antigènes l'extrait alcoolique de foie syphilitique, un extrait de carcinome, d'épithéliome, de mycosis fongoide, de tuberculome, enfin avec certaines lécithines, la tuberculine, le sporotrichum Beurmanni, l'actynomyces et certains microbes comme le pneumocoque et le bacille d'EBERTH».

———

The majority of authors thus agrees that, in leprosy the WASSERMANN test is positive in a large percentage of cases. The poly-fixing properties of leprous serum, which allow of its deviating the complement when mixed with the most diverse antigens, allied with its natural inhibitory properties, probably explain the large percentage of positive WASSERMANN reactions in leprosy. This, however, does not in any way take from the value of the WASSERMANN test in syphilis. Although not a specific reaction batween actual antigens and antibodies, but a reaction between lipoids of the antigen and those existing in the serum, there is no doubt that is extraordinarily frequent in syphilis.

In the tubercular form of leprosy which gives the greatest percentage of positive WASSERMANN tests, the clinical observations will aid enormously in diagnosing, and the microscopic observation of the nodules will certainly reveal bacille of HANSEN, as they are very constant in the cutaneous lesions of the disease and their research very easy to carry out.

JEANSELME's therapeutic test for excluding syphilis by treating patients with anti-syphilitic drugs and observing the disappearance of the positive WASSERMANN reaction in syphilis and its remaining in leprosy cannot be realied on absolutely. There are cases of pure and WASSERMANN resisting syphilis, which maintain the same fixing properties in the face of the most energetic treatment. Unfortunately these are not rare cases.

The therapeutic test may therafore be tried but one must not expect everything from it.

The complement deviation with leproma extract is also not a sure proof in the differential diagnosis of the two diseases as this antigen sometimes deviates the complement with syphilitic serum .

Thus only the clinical observations can solve the question aided where possible by the research of bacilli in the lesions.

We had the opportunity of carrying out the WASSERMANN, and SACHS-GEORGI tests on the sera of 50 lepers interned in the Leper Hospital of Rio de Janeiro. We here tender our most grateful thanks to Prof. Dr. FERNANDO TERRA, who is in charge of the Leper Hospital, for his kind permission and courtesy. Of the 50 patients, 8 were of Lepra maculosa, 23 of Lepra tuberosa, 17 of Lepra nervorum, 1 of Lepra mixta and 1 of Lepra maculo-anæsthetica.

For the WASSERMANN test we made use of the following antigens: luetic liver (foetus with hereditary syphilis), cholesterinised human heart, cholesterinised ox-heart, acetone-insoluble lipoids (according to NOGUCHI's process), actone-insoluble lipoids (according to BORDET's process) and LESSER's ethereal extract. All these antigens largely experimented with syphilitic sera proved themselves to be very sensitive. The inhibitory properties of all of them were previously titrated.

To avoid the causes of error resulting from examining the serum many days after bleeding, the serum was collected and, after the separation of the coagulum, decanted and then inactivated in a water-bath at 56°C. during 15 minutes. They were then kept to avoid its losing in the refrigerator until the next day when the reaction was carried out. The complement used in the reactions was fresh serum of normal guinea-pigs, collected the same day to avoid its losing any of its properties. So as to obtain a more homogeneous complement we would bleed 10 to 20 guinea-pigs.

The hemolytic serum usea was rabbit anti-red blood corpuscles of sheep, a potent hemolytic serum hemolysing diluted at 1 to 6000, 1 cc. of sheep globules at 5 % in half an hour. We always used in the reaction 3 to 4 hemolysing doses which were sufficient to overcome the natural inhibitory action of leper serum.

Saline solution was used to wash the sheep corpuscles several times and then a 5 % solution of corpuscles was made in it.

The technic employed was the following; seven tubes were used for each test, each one receiving 0,2 of leper serum and then 0,2 of antigen except the last one which remained as a control of the serum and did not receive any antigen. (*) The volume was brought up to 1 cc. in all the tubes with the aid of saline solution and 1 cc. of complement (1/10 solution of guinea-pig serum in saline solution) was added.

The volume of 1 c.c. of complement used in the test was thus excessive and was meant to overcome the inhibitory action of leper serum.

The tubes prepared in this manner representing each a different antigen were next placed in a water-bath at 37°C. and there subjected to a first incubation during the space of an hour, At the end of that time we added the sheep globules sensitised with 3 to 4 hemolytic unities.

The reading of results was undertaken at the end of an hour when all control tubes showed complete hemolysis.

The hemolysis proceeds slowly when the hemolytic system is added; leper serum even when quite recent, i. e. when collected and examined on the same day, has quite marked inhibitory properties, and this why we protracted the time before the final reading of results.

Finally the degree of complement-fixation by the 6 different antigens em-

(*) This dose of 0,2 of the various antigens employed represented 4 or 5 antigenic unities and to obtain it the antigens were previously titrated with sera of syphilitic patients and used in such dilution that 0,2 contained the before mentioned number of antigenic unities.

ployed was compared; the results are indicated on a special table in which the greater or smaller number of crosses stand for a greater or smaller degree of fixation and a horizontal line for those in which there was no fixation. In this table it is easy to observe how the different antigens employed act when mixed with leper serum. The antigens giving the greatest fixation with leper serum are therefore: luetic liver, cholesterinised human heart and cholesterinised ox heart. Antigens prepared with acetone-insoluble lipoids both by NOGUCHI's and by BORDET's processes, fix less and LESSERs' antigen least of all. These antigens tested with syphilitic sera all behaved practically identically, but in our case as will be seen in the table there is a marked discordance in the degrees of fixation.

The greatest number of positive WASSERMANN reactions is found in the tubercular and macular forms of the disease, especially in the latter. All the patients by us examined had no syphilis in their clinical history and the greater part of them treated with 914 did not improve nor did the treatment affect the reaction.

In leprosy of the nerves the percentage of positive WASSERMANN reactions is very much more reduced and this has been observed by all the authours.

The precipitation reaction of SACHS-GEORGI latterly indicated by these research-workers for diagnosing syphilis agrees very well with the WASSERMANN reaction in this disease. as we had the chance to observe in a previous work; studying 2.000 cases we tried to ascertain wether the SACHS-GEORGI test was also, like the WASSERMANN test, positive in a great degree in leprous serum.

We followed the author's own technic, in carrying out the test, using as antigen alcoholic extract of ox-heart at 1 to 5.

This extract had given the best results with syphilitic sera. The leper's serum was diluted in 0,85 % saline solution in the proportion of 1 to 10. To 1 c.c. of diluted serum we added 0,5 of antigen also diluted at 1 to 6. The tubes remained in the incubator at 37°C. during 21 hours whereupon results were read.

The results are more or less identical to those of the WASSERMANN reaction, but there is a greater number of negatives with the SACHS-GEORGI test.

As with the WASSERMANN reaction the greatest number of positive reactions is obtained in the tubercular and macular forms of leprosy, the nervous form deviating the complement in far fewer cases.

1. F., male sex, 40 years of age, 25 of disease. Lepra nervorum. WASSERMANN test: positive. SACHS-GEORGI test: negative .

2. J. de M., 39 years of age, 20 of disease. Lepra nervorum. WASSERMANN test: negative. SACHS-GEORGI test: negative.

3. A., 42 years of age, 7 of disease. Lepra nervorum. WASSERMANN test: negative. SACHS-GEORGI test: negative.

4. M., 24 years of age, 5 of disease. Lepra tuberosa. WASSERMANN test: positive. SACHS-GEORGI test: negative.

5. A., 38 years of age, 6 of disease. Lepra maculosa. WASSERMANN test: positive. SACHS-GEORGI test: positive.

6. J. V., 27 years of age, 6 of disease. Lepra maculosa. W. t.: positive. S. G. t.: positive.

7. R. P., 33 years of age, 2 of disease. Lepra maculosa. W. t.: positive. S.—G. t. positive.

8. V. P., 30 years of age, 1 of disease.

Lepra nervorum. W. t.: positive. S.-G. t.: positive.

9. N. V., 30 years of age, 7 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

10. J. N., 28 years of age, 10 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive S.—G. t.: negatiive.

11. A. L., 20 years of age, 3 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative S.—G. t.: negative.

12. C. S., 15 years of age, 3 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

13. J. P., 34 years of age, 17 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

14. B. L., 29 years of age, 10 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

15. M. L., 25 years of age, 5 of disease. Lepra maculosa. W. t.: positive.

16. E. N., 50 years of age, 5 of disease. Lepra tuberosa W. t.: positive. S.—G. t.: negative.

17. A. D., 15 years of age, 1 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

18. J. P., 28 years of age, 16 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

19. M. G., 65 years of age, 12 of disease. Lepra tuberosa. W., t.: negative S.—G. t.: negative.

20. J. M., 58 years oof age, 6 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

21. J. C., 45 years of age, 7 of disease. Lepra tuberosa. W: t.: positive. S.—G. t.: positive.

22. Z., 39 years of age, 12 of disease. Lepra maculo-anaesthetica. W. t.: positive. S. G. t.: negative.

23. L. J., 43 years of age, 11 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

24. J. R., 32 years of age, 6 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

25. S. de A., 25 years of age, 5 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

26. L. de S., 34 years of age, 14 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t: negatve:

27. J. de S., 49 years of age, 20 of disease. Lpera tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

28. B. M., 15 years of age ,2 of disease. Lepra maculosa. W. t.: positive. S.—G. t.: negative.

29. J. S., 30 years of age, 7 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative S.—G. t.: negative.

30. V. G., 62 years of age 12 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

31. R. A., 38 years of age, 2 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: negative.

32. P. P., 59 years of age, 4 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

33. J. M., 18 years of age, 6 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

34. J. de A., 62 years of age, 15 of disease. Lepra nervorum. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

35. C. S., 24 years of age, 4 of disease. Lepra nervorum. W. t.: positive. S.—G. t.: negative.

36. G. G., 57 years of age, 34 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

37. R. L., 32 years of age, 13 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

38. F.R., 38 years of age, 9 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: negative.

39. J. R., 31 years of age, 5 of disease. Lepra maculosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

40. J. B., 25 years of age, 8 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: positive.

41. J. M., 40 years of age, 13 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t.: positive.

42. 16 years of age, 9 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

43. J. M., 11 years of age, 1 of disease. Lepra maculosa. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

44. G. B., 13 years of age, 4 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

45. J. M., 14 years of age, 2 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: positive. S.—G. t.: negative.

46. M. F. G., 15 years of age, 4 of disease. Lepra maculosa. W. t.: positive. S.—G. t.: negative.

47. A. C., 11 years of age, 5 of disease. Lepra tuberosa. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

48. M. F. R., 59 years of age, 9 of disease. Lepra mixta. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

49. H. L., 35 years of age, 12 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

50. B. A., 32 years of age, 4 of disease. Lepra nervorum. W. t.: negative. S.—G. t.: negative.

	Liver of foetus	Human heart	Bovine heart	Antigen of Noguchi	Antigen of Bordet	Antigen of Lesser
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
32						
33						
34						
35						
36						
37						
38						
39						
40						
41						
42						
43						
44						
45						

	Liver of foetus	Human heart	Bovine heart	Antigen of Noguchi	Antigen of Bordet	Antigen of Lesser
46	++	++	++	—	—	—
47	—	—	—	—	—	—
48	—	—	—	—	—	—
49	—	—	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—

SAGHI-GEORGI test.

No. 1 Negative.
« 2 Negative.
« 3 Negative.
« 4 Negative.
« 5 Positive.
« 6 Positive.
« 7 Positive.
« 8 Positive.
« 9 Negative.
« 10 Negative.
« 11 Negative.
« 12 Negative.
« 13 Positive
« 14 Positive.
« 15 Positive.
« 16 Negative.
« 17 Negative.
« 18 Negative.
« 19 Negative.
« 20 Positive.
« 21 Positive.
« 22 Negative.
« 23 Negative.
« 24 Positive.
« 25 Positive.
« 26 Negative.
« 27 Positive.
« 28 Negative.
« 29 Negative.
« 30 Negative.
« 31 Negative.
« 32 Negative.
« 33 Negative.
« 34 Positive.
« 35 Negative.
« 36 Negative.
« 37 Positive.
« 38 Negative.
« 39 Positive.
« 40 Positive.
« 41 Positive.
« 42 Negative.
« 43 Negative.
« 44 Negative.
« 45 Negative.
« 46 Negative.
« 47 Negative.
« 48 Negative.
« 49 Negative.
« 50 Negative.

Conclusions:

1.—In leprosy, the WASSERMANN test in frequently positive. In 50 % of cases with antigens of luetic liver (from foetus with hereditary syphilis), of cholesterinised human heart and of cholesterinised ox-heart; in 32 % of cases with the antigens of acetone-insoluble lipoids (NOGUCHI or BORDET processes) and in 14 % of cases with LESSER's antigen (ethereal extract of organ).

2.—The degree of fixation varies greatly according to the antigens employed. It is, however the antigens prepared with liver of foetus with hereditary syphilis and those with cholesterinised ox-heart that give the greatest fixation.

3.—The greatest number of positive WASSERMANN reactions is given by the macular (87,5 % and tubercular (65,2 %) forms of leprosy. The nervous form of the disease furnished 17,7 % of positive reactions.

4.—The cause of complement fixation by leprous serum when mixed with a syphilitic antigen is certainly to be explained by the poly-fixing properties of the serum.

5.—The SACHS-GEORGI test in leprosy gives a total percentage of 36 % positive reactions.

6.—The greatest percentage of SACHS-GEORGI positive reactions is given by the macular form of the disease (62,5%), the next greatest by the tubercular form (39,2 %). The nervous form gives a percentage of 17,7 % positive SACHS-GEORGI reactions .

A Peste dos Polmões

SYNONYMIA

"Peste dos polmões"
"Molestia de VRYBURG"
"Mal triste"
"Caroços"
"Curso"
"Diarrheas"
"Peste de seccar"
"Mal do tarde"
"Febre dos pantanos"
"Pneumo-enterite"
"Septicemia multiforme"
"Caruára"

pelo

DR. OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES

O presente trabalho é um apagado relatorio da observação dilatada de quem vive apprendendo.

Não se quiz fazer doutrina, impôr principios ou idéas.

Não é crime, porêm, dizer o que se nos pareceu a verdade. E foi isso o que tentámos. E foi só isso o que fizemos.

Nosso trabalho vae dividido em 12 capitulos.

1) Historico.
2) Origem.
3) Microbiologia.
4) Clinica.
5) Epizootologia e geographia da molestia.
6) Anatomia pathologica (macro e microscopica.
7) Etiopathogenia.
8) Immunidade.
9) Diagnostico.
10) Prognostico.
11) Prophylaxia.
12) Tratamento.

HISTORICO.

Já ha alguns annos que vimos nos occupando desta interessante molestia dos animaes. Acoroçoamo-nos, ultimamente, com maior afinco para esta questão. O ponto de partida dos nossos estudos foi duplo. Visamos em primeiro logar obter remedio para um mal de tama-

nha monta, e, em segundo, verificar com exactidão a etiologia do mesmo.

Este segundo modo de entender eranos particularmente precioso, pois, na apparencia, tinha a molestia alguma semelhança com a descripta em 1829 por SORILLON, e para o esclarecimento de cuja etiologia NOCARD (1), em 1888, tão brilhantemente concorreu. O germen descripto por NOCARD está incluido entre os cogumelos no grupo das Estreptothriceas (2, 3, 4).

A molestia tem superficialmente, tambem alguma semelhança com a descripta na Argentina por LIGNIÈRES e SPITZ, (5 e 6) e não deixa de ter alguns pontos de contacto com a que descreveu o Snr. G. BOUFFARD na raça humana (7).

A molestia de BOUFFARD é devida a uma Pasteurella, extremamente pyogenica, cuja séde predilecta são os musculos do esqueleto. O cocco-bacillo é GRAM negativo, e extremamente pathogenico para os coelhos, cães e macacos.

Ha ainda outra molestia—A pyosepticemia dos poldrinhos, causada por um bacillo—o *Bacillus pyosepticus equi,* para o qual chamamos attenção.

Esta doença tem sido modernamente estudada particularmente nos Paizes-Baixos. E' longiqua todavia, sua semelhança com a que estudamos. Recentemente, outras congeneres têm apparecido, já nos camêllos, já nos perús, devidas aos arysophitos. A de LIENAUX é devida a um bacillo da pseudo—tuberculose.

O unico trabalho nacional, digno de interesse, sobre o assumpto, era o publicado por EZEQUIEL DIAS e MARQUES LISBOA (13). Ahi, achavam os auctores brazileiros que o bacillo descripto por VRYBURG, em Deli, era identico ao que elles encontraram e agente causal da molestia. Em 1917, G. PALAZZOLO repetiu as experiencias dos nossos patricios, e verificou nos bezerros recem-nascidos ou adultos a molestia cutanea.

Para este auctor o mal evoluia em 12 a 50 dias. Attribuiu a uma Pasteurella a causa etiologica da molestia. Reproduziu, num bezerro de 20 dias, a syndrome com material colhido no peritonio de um coelho, morto em menos de 24 horas pela cultura pura da Pasteurella (inoculação de 10 c.c., via subcutanea).

A observação dilatada que já possuimos, permitte-nos senão affirmar dados definitivos, pelo menos assegurar conclusões de um certo interesse. O encaminhar da questão levou-nos bem longe do ponto de partida. Ninguem póde prever um itinerario certo em assumpto de tal natureza. Marcam-se etapas, mas, no realizal-as, modificam-se ás vezes totalmente as perspectivas do trabalho.

Procuravamos um cogumelo, e, si possivel, uma therapeutica para o mesmo.

Cahimos todavia noutro terreno da microbiologia. O presente trabalho é a resultante de esforços pacientes, perseverantes e continuados por longo tempo.

Procurámos fazer a microbiologia pormenorizada das lesões animaes, insulando, estudando a biologia, identificando emfim numerosos germens provenientes dessas lesões. Preparámos sôros e vaccinas com diversos microbios, ensaiando suas propriedades curativas ou preventivas. Estudámos os aspectos clinicos da molestia natural e experimental. Fizemos uma resenha da anatomia pathologica, da sua epidemiologia, sua transmissão e therapeutica. Os que labutam nesses assumptos poderão, assim pensamos, com mais benevolencia julgar do nosso esforço, expresso nas presentes linhas, e desculpar suas falhas tão grandes quanto involuntarias.

ORIGEM.

A origem da molestia que estudamos parece-nos muito obscura.

A principio suppuzemol-a autochto-

ne do continente americano, e mesmo talvez da America do Sul.

As descripções porêm, de VRYBURG, em Deli, Sumatra, provaram que a molestia existe tambem na Oceania.

Percorremos toda a vasta litteratura do Instituto OSWALDO CRUZ.

Recorremos ás collecções particulares e á do Posto de Observação e Enfermaria Veterinaria de Bello Horizonte sobre veterinaria. Nenhuma suspeita encontrámos que nos pudesse esclarecer a questão.

As obras classicas de Veterinaria nem sequer referem-se ao assumpto.

Será uma molestia importada e adaptada, pelas circumstancias do clima e dos campos, ao nosso paiz?

Será que nessa adaptação se tenha modificado a *facies* caracteristica com que ella se apresenta noutros paizes?

Informou-nos um velho morador da povoação de Queimados—(alguns kilometros da estação FRANCISCO DE SÁ—ramal de Buenopolis, E. F. C. B.) que ha 30 annos conhece, esta molestia, ora enzootica, ora epizooticamente nos campos que circumdam o local.

Isso nos leva a crer que, pelo menos, ella já exista ha muito tempo nos nossos campos, mais ou menos confundida com outros males dos rebanhos.

A denominação de «peste dos polmões», provém do aspecto com que se apresentam os animaes atacados por uma das modalidades da molestia. «Polmões» vem do latim—«pulmo»—e quer dizer—«inchação».

Na modalidade, que chamamos «cutanea», a manifestação berrante da molestia, são os «polmões» ou inchaços» cutaneos.

Como era isso o que impressionava os creadores, e, muita vez, numa epizootia só isso, a denominação de «peste dos polmões» passou a ser a expressão generica de uma molestia muito mais complexa na sua syndrome-clinica. A parte expressava o todo. Essa manifestação cutanea é tambem conhecida, noutras regiões, pela denominação de «caroço». São «caroços» que brotam pelo corpo dos bovideos. Nessas zonas, ninguem conhece «polmões»; todos sabem o que é «caroço».

Em nosso trabalho unificámos as diversas modalidades da molestia que viviam separadas ou ignoradas. Mostrámos que a molestia, longe de ser um mal apenas dos bezerros, atacava indifferentemente bois e vaccas de todas as edades e raças. (19).

Este facto é de muita importancia, para ser silenciado ou confundido como aconteceu com a transcripção e traducção da nossa nota prévia no *Tropical Veterinary Bulletin* (20). Molestia dos bezerros é uma coisa: molestia dos bovideos e caprinos é outra muito mais vasta.

Chegámos assim pela observação e experimentação á conclusão de que, pelo menos certas diarrheas ou cursos (nos bezerros principalmente) são manifestações do mesmo virus que causa os polmões; que a chamada, nalgumas zonas, «peste de seccar», «mal triste», é tambem uma das fórmas sob que se póde apresentar o virus que causa os polmões e os cursos.

Chegámos além. Casos de morte subita dos bovideos, numa epizootia de polmões, expressam a fórma aguda, sob que evolue em muitos individuos, o mesmo virus.

Quanto á denominação de molestia de VRYBURG, propomol-a nós, em honra a quem, ao que parece, pela primeira vez descreveu uma das modalidades da molestia. A epizootia que VRYBURG descreveu em Deli é caracterizada pela formação de abcessos na espessura cutanea, nos vasos e ganglios lymphaticos superficiaes, e algumas vezes, nos pulmões. A molestia é chronica, raramente febril, terminando geralmente pela cura. O pus dos abcessos é espesso, crêmoso, amarello-pallido, *inodoro* ou raramente com odor nauseoso.

Não é um pus homogeneo; contém partes um pouco grumosas. Não ha grãos semelhantes aos da actinomycose. A duração varia de um mez a um anno.

Ha uma complicação assignalada—inflammação do tecido keratogenico.

Dahi os animaes não poderem caminhar. O germen indicado por VRYBURG, como causador da molestia assemelha-se ao que, muitas vezes, apparentemente insulámos em culturas puras dos casos de «modalidade cutanea», entre nós.

Recentemente (21) os Snrs. SIVOSI e MARCHISOTTI descreveram uma nova molestia dos porcos (Pyohemia pelo bacillo BRIDÉ—SIVOSI) tendo alguma semelhança com a peste dos polmões. As lesões nervosas são correntes nesta molestia. O porco da India é sensibilissimo ao bacillo insulado, que é GRAM-positivo. Os auctores identificaram o germem causador da molestia ao bacillo BRIDÉ-SIVOSI, encontrado por COSTELEZZI e POXELLA nos abcessos caseosos dos bovideos, e ao da pseudo-tuberculose caseosa das ovelhas. Julgam ter alguma relação com o microbio do «*Mal de Lure*» descripto pelo Snr. CARRÉ. Como se vê de tudo isso, já pelo feitio, já pela descripção, a molestia que estudamos apresenta mais pontos de contacto com a verificada em Deli.

O mal, a ter sido importado, teria vindo da Asia. VRYBURG fala naquelle trabalho em bois zebus. Não terá a molestia sido levada para Deli, pelos rebanhos importados das Indias Inglezas.

Verdade é que, nas gazetas inglezas, nada encontramos com respeito a uma tal molestia reinante nos rebanhos da colonia.

Deli, como é sabido, fica ao norte da ilha de Sumatra (archipelago das Sondas), á margem do estreito de Malacca, quasi na emboccadura para o Oceano Indico. O commercio de bovideos dessa possessão hollandeza com as Indias Inglezas, é muito provavel, seja grande.

O assumpto em todo o caso ainda merece attento estudo.

A denominação de «mal do tarde» é propria do Estado do Rio Grande do Sul.

A influencia das fronteiras (com gente de lingua hespanhola) até aqui é manifesta.

«Tarde» chamam os estancieiros—a epocha correspondente ao fim do verão e outomno. Os bezerros (ou como elles costumam, ainda pela influencia do hespanhol, chamar «terneiros») nascidos neste tempo são animaes do «tarde» má occasião, segundo afirmam, para creação dos bovideos.

Dahi o ataque frequente, dada a menor resistencia do animal, pelas molestias em geral.

A molestia de VRYBURG surge justamente com mais frequencia nesta epocha.

Ignorada a molestia e a causa, recebe ella a denominação do tempo em que apparece: «mal do tarde».

Nem ella é, comtudo o apanagio dos bezerros recem-nascidos, nem tão pouco exclusiva de determinada estação do anno.

MICROBIOLOGIA DA MOLESTIA.

Dentre os germens que insulámos dos animaes atacados pela molestia, convém assignalar em 1º lugar, os bacillos com o typo que VRYBURG descreveu em Deli, e E. DIAS e M. LISBOA viram entre nós.

Naturalmente, na peste dos polmões, procurámos verificar desde logo, onde encontrar, com constancia, o causador do mal. Os polmões são os elementos que contém, seguramente e com constancia, o agente etiologico da molestia.

Para elles dirigimos nossa attenção, tanto mais quanto julgavamos, a principio, serem elles as unicas manifestações reaes da molestia.

O exame do pus proveniente dos polmões mostrára-nos logo ser o mes-

mo grandemente septico em qualquer periodo da sua evolução.

A invasão mixta dá-se, acreditamos, desde o inicio da lesão.

Examinamos polmões fechados menores que uma noz, e outros maiores que uma turanja. Num boi da Fazenda do Capitão DIVINO, proximo a Lassance (E. F. C. B.) á 50 leguas de Bello Horizonte, vimos, ao lado de outros menores, um grande polmão no pescoço de um bovideo com cerca de 3 litros de pus (V. photographia nº. 10)

Não apercebemos differença na quantidade ou qualidade dos germens encontrados.

Nem uma unica vez, em cerca de duas centenas de exames, encontrámos um pus bacterioscopicamente aseptico.

O methodo de GRAM revela ora bacillos GRAM-positivos ora negativos. Vemos bacillos com o typo de VRYBURG. A's vezes, typos de estreptothrix (muito raramente). Não se encontram bacillos acido resistentes. Tão pouco espirillos, treponemas ou quaesquer outros protozoarios.

Os exames pelo TRIBONDEAU-FONTANA, e GIEMSA mostravam-nos apenas os microbios já citados.

Os bacillos GRAM-positivos ora são pequenos, ora são maiores, do typo diphtheroide de que adeante falaremos.

Os exames pormenorizados, em camadas finas, e regularmente fixadas pelo alcool á 40º (a quente ou a frio) deixam nos entrever, alem disso, no meio da poeira microbiana, uma especie pequenissima de diplococcus-GRAM-negativos, de frequencia grande.

Trabalhámos em nossas experiencias, sempre com abcessos fechados, e, quando assim não fizemos, assignalamos particularmente no decorrer da exposição.

Nossa primeira orientação foi a de procurar, a todo transe, os bacillos typo VRYBURG em todos os casos da molestia.

Qual não foi a nossa surpresa, quando verificámos em casos numerosos, num grande numero de vezes, que as sementeiras (60 tubos, ás vezes, em meios varios) ficavam estereis.

O exame todavia, desses esfregaços directos do pus dos polmões revelava a presença de germens varios. Nunca encontrámos, pelo exame directo, um pus esteril.

E, todavia, as sementeiras pretendiam demonstrar a esterilidade do pus colhido. Qual seria, de facto, a explicação razoavel dessa apparente contradição entre o exame directo e o das sementeiras? Seria que os germens, existentes no pus, estivessem mortos? Seria que entre elles não existissem os bacillos do typo VRYBURG? Ou seria ainda porque fossem insufficientes os meios de cultura de que nos serviamos? Ou ainda que os germens existentes, naquelles casos nos «polmões» fossem anaerobios, improprios portanto para germinarem nos meios que empregavamos (aerobiose)?

A technica que seguimos foi a seguinte: raspavamos, á navalha, os pellos do animal no ponto desejado. Lavamos com uma solução qualquer fraca, desinfectante (creolina, lysol, etc).

Passavamos tintura de iodo (5 minutos). Cauterizavamos, em seguida, com um ferro super-aquecido o local. Com uma pipeta estirada, ponteaguda e resistente, ou com uma seringa de agulha grossa, punccionavamos o phlegmão. O pus jorrava quasi sempre com pressão. Não havia mister aspirar, senão movimentar brandamente, a ponta da pipeta ou da agulha, para que se não obliterasse com algum coagulo ou filamento do pus.

A pressão que reina dentro dos abcessos, na maioria dos casos, basta para jorrar o pus na pipeta.

As sementeiras obedecem as exigencias da technica.

Escolhemos sempre os abcessos fechados e de todos os tamanhos. Na mesma occasião praticavamos alguns es-

fregaços em laminas novas, previamente aquecidas á chamma do alcool, e diluiamos o pus num pouco de sôro physiologico para inoculações.

Com essas cautelas, a ausencia do bacillo typo VRYBURG pode ser verificada. Queremos dizer: ha casos typicos de peste dos polmões, onde não se encontra o referido bacillo.

Como resposta ao 1º quesito que formulámos, respondemos pela affirmativa: estavam vivos. A prova será obtida na sequencia desse trabalho.

Quanto ao segundo, a resposta é tambem positiva: havia ausencia.

Quando existe o bacillo VRYBURG, a germinação é abundante e rapida (24 horas) nos meios communs—(agar agar glycerinado, caldo, etc).

Nos casos de sementeiras estereis com material proveniente dos phlegmões, em meio algum ha germinação. (agar simples, agar glycerinado, SABOURAUD, maltosado, SABOURAUD-pelle, LOEFFLER, sôro coagulado, NOGUCHI (sôro caldo sem glycerina e sem rim), agar-glicerinado-pus, etc., em condições de aerobiose.

Nalguns casos, o caldo simples ou glycerinado e os meios de NOGUCHI (sem orgãos) dão culturas, ainda quando todos os outros meios solidos permaneçam estereis.

Este facto encontra explicação na frequencia de anaerobios no pus dos phlegmões. Em muitos animaes encontramol-os, numerosas vezes, com exclusão de qualquer aerobio.

Quando só existem estes anaerobios, só em meios apropriados—(o caldo serve nas camadas profundas; o meio de NOGUCHI é optimo) ha desenvolvimento microbiano.

De accordo com a moderna theoria das vitaminas e com o que se fez na lymphangite epizootica (23), preparámos um meio com pus (agar glycerinado pus).

Nem assim, nos casos referidos, houve germinação de bacillo algum em condições optimas de aerobiose. Nas culturas com pus, o desenvolvimento do bacillo typo VRYBURG não é nem mais rapido, nem mais abundante. Os tubos com culturas addicionados com pus eram preparados juntando, a cada tubo de agar-agar glycerinado, 10 a 15 gottas de uma solução a 5% de pus dos phlegmões, prévia e convenientemente esterilizado.

O que nos parece mais avisado é concluir que, nos casos de esterilidade das sementeiras em aerobiose, só podemos attribuir á essa ultima condição de cultura, a falta de germinação. De mais, os germens anaerobios que isolamos são GRAM negativos e positivos. São, além do mais, muito pequenos, si bem que differentes dos do typo VRYBURG.

Este ultimo germen vive tambem em anaerobiose.

A questão de anaerobiose no pus dos polmões está, no nosso modo de pensar, resolvida. Casos ha nos quaes só existem germens anaerobios nos phlegmões dos animaes doentes. Não ha bacillos com o typo VRYBURG (anaerobios facultativos).

Toda sementeira, abundante que seja, em condições de aerobiose fica esteril. Si semearmos porêm, o mesmo material pelo processo, por exemplo, de LIBORIOS, germinam immediatamente numerosas colonias. Ahi está a explicação porque nós, que só procuravamos aerobios facultativos, conseguimos sementeiras aerobias estereis. Diremos mais tarde sobre cada um desses germens separadamente.

O bacillo do typo VRYBURG é um pequeno microbio, polymorpho, GRAM negativo, com cerca de 0,5 *micron* de tamanho, de accentuados movimentos brownianos, e, talvez, de ligeiros movimentos de lateralidade. Tão assignalados são aquelles que durante muito tem-

po suppuzemos que fossem todos moveis.

Estudámos 8 estalões de taes bacillos. Não seria erro affirmar a existencia de raças moveis. Num quadro junto resumiremos o estudo systematico que fizemos, durante largo tempo, das 8 amostras.

No inicio do nosso trabalho, mostrámos que ao abordar o capitulo dos polmões vizámos o estudo de um possivel cogumelo e sua therapeutica.

Dadas certas exigencias dos bacillos do typo VRYBURG, e seu polymorphismo, resolvemos semeal-o em meios proprios para cogumelos e verificar os resultados. As sementeiras em SABOURAUD maltosado, glycerinado, ou com rapadura, durante muito tempo, não modificaram a fórma dos bacillos typo VRYBURG.

As colonias crescem lentamente na temperatura do laboratorio. As fórmas bacillares permanecem sem alteração digna de nota. Este meio não é bom para a conservação dos bacillos. Semeando-se um material virulento, quando existem, os bacillos do typo VRYBURG germinam com muita facilidade á temperatura de 37º, nos meios communs de laboratorio. E' interessante assignalar, que, com as resementeiras, os bacillos augmentam de volume, tornam-se grossos e mais longos. Este augmento é sensivel na batata e leite.

Elles pódem se apresentar sob a fórma de estrepto-bacillo, de 4 ou 6 elementos.

Nas culturas velhas essa fórma se accentua e attinge, não raro, a cadeias de 50 ou 60 elementos. São dignas de estudo as colonias superficiaes ou profundas. O exame das colonias superficiaes foi feita nas culturas obtidas em agar-agar na temperatura de 37º., em placas de PETRI. O desenho interno, visto com augmento forte, é constituido por um fino reticulo egualmente distribuido Damos no nosso trabalho, uma photographia obtida nessas condições. São colonias arredondadas, de contornos nitidos, transparentes ou ligeiramente baços, viscosos, com duas zonas bem nitidas, no aspecto interno: uma escura, central e outra clara peripherica. (Oc. 4 ou 5 e Obj. A A., ZEISS, luz natural).

Quando a sementeira é bem feita, as colonias não são confluentes. Lembram, em conjuncto, as colonias do bacillo do cholera das gallinhas, no mesmo meio. Poderiam, em certos casos, nas 16 ou 20 horas posteriores, lembrar as colonias de «*Estaphylococcus pyogenes albus*». Nas sementeiras abundantes ha confluencia das colonias, que formam uma unica camada na superficie do meio de cultura. Em 24hs. a 37º., obtem-se, no agar-agar simples, material sufficiente para algumas agglutinações. Os bacillos do typo VRYBURG são anaerobios facultativos. Já o affirmára o seu descobridor. Damos neste trabalho, a photoghaphia de uma sementeira, obtida pela technica de LIBORIOS.

As colonias crescem lentamente, e formam como que um pontilhado por toda a altura do agar-agar. Este, em camada alta, era coberto por uma certa quantidade de vaselina liquida, préviamente esterilizada.

Os tubos assim preparados eram levados a uma campanula aonde faziamos o vacuo préviamente, após o que introduziamos uma corrente de hydrogenio puro. Bem arrolhadas, de modo a impedir a sahida do hydrogenio, eram as campanulas levadas á temperatura de 37º., na estufa. Os replantios eram feitos, aquecendo o agar-agar até liquefacção resfriando-os repentinamente e, em chegando a uma temperatura vizinha de 50º., semeavamos por suspensão os bacillos do typo VRYBURG. As colonias em anaerobiose são irregulares, mais escuras no centro, mas sem orla. As colonias dos bacillos typo VRYBURG em aerobiose ou em anaerobiose não têm cheiro caracteristico.

Semeámos, tambem, em anaerobiose, pela technica combinada do pyrogallato de potassio, vacuo e corrente de hydrogenio (caldo e agar-agar simples).

Os tubos das sementeiras eram collocados dentro de outros mais largos, dos em que se costuma collocar batatas para replantios, (com estrangulamento inferior) cujo fundo era cheio com pyrogallato de potassio. Fechados convenientemente os tubos mais largos, com algodão, rolha de cortiça e parafina, eram levados a uma campanula onde se fazia o vacuo e passava-se uma corrente de hydrogenio puro. A campanula era levada á temperatura de 37º. Os bacillos, em emulsão do sôro physiologico, não atravessam as velas BERKEFELD.

Essa verificação já havia sido feita aliás, pelos Drs EZEQUIEL DIAS e H. MARQUES LISBOA (ob. cit.)

A importancia desse facto é decisiva para o caminho em que nos collocámos. Si os bacillos passassem pelas velas não importava comtudo, no desmantelamento das nossas experiencias. A filtração de certa emulsão bacillar, em sôro physiologico, não pode ser comparada á da emulsão em sangue e pus do mesmo bacillo.

Poderiam os bacillos atravessar as velas no primeiro caso e ser retidos no segundo. Os principios de physica, que regem a materia, não são os mesmos nos dois casos. Desejamos desde logo assignalar que o fétido sentido no pús dos polmões corre por conta dos anaerobios que elle contém, e particularmente do *Diplococcus polmonis*.

	Patrocinio Bacillo	**Bacillo X.**	**Bacillo P.**	**Bacillo U.**
Agar-agar sangue (inclinado)	Colonias como em M. Bordos corretissimos.	24 horas Culturas abundantes como em P.	24 horas. Culturas muito abundantes pequenas, transparentes mas confluentes, regularmente arredondadas.	24 horas. Culturas abundantes. Colonias branco mate, espessas. arredondadas, com centro proeminente. Desenho interno reticulado. Bordas regulares, formadas de pontos.
Gelatina (Picada)	Dissolução em 3 dias, fórma de tubo, em 8 dias houve augmento.	Como o de Patrocinio.	Idem	Houve dissolução em 8 dias. Em 6 lembrava o canal da picada, as radiculas de uma raiz.
Sôro de LOEFFLER (inclinado)	Culturas menos abundantes que no agar sôro. Fraco desenvolvimento. Estria amarellada ao nivel do deslize da agulha.	Como o de Patrocinio.	Idem, Idem.	Idem, Idem.
Agar-agar Sôro	Como o Bacillo G.	Como o Bacillo G.	Como no Bacillo G.	Idem, Idem.

	Patrocinio Bacillo	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo U.
Caldo glycerinado	Turvação uniforme Deposito finissimo no fim de algum tempo.	Como no Bacillo Patrocinio.	Como no Bacillo Patrocinio.	Como no Bacillo Patrocinio.
Batata.	48 horas. Cultura brilhante apenas visivel.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.

	Bacillo G.	Bacillo 66 Patrocinio	Bacillo p. D.	Bacillo s. D.
Batata.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.	Desenvolve-se regularmente. Em 48 horas, a superficie fica coberta de pequenas colonias, humidas, brancas. Agua turva. Pellicula e deposito.	Como no bacillo p. D.
Agar-agar sangue	Cultura muito abundante em 24 horas Semelhante a P.			Cultura semelhante á do bacillo P.
Gelatina	Dissolução em 8 dias. Em 6 dias, como no bacillo M.	Não dissolve	Em 24 horas dissolve. Nota-se uma pequena gotticula de dissolução. Em 72 horas dissolução mixta em tubo e sacco.	Como no Bacillo p. D.
Sôro LOEFFLER (inclinado)	Como no bacillo Patrocinio, menos desenvolvimento, aqui, menor.	Culturas abundantes. Aspecto das em agar-agar simples.	Desenvolvimento intenso 24 horas estria amarella sulcando o meio. 48 horas dissolução do meio.	Como no Bacillo p. D.

	Bacillo G.	Bacillo 66 Patrocinio	Bacillo p. D.	Bacillo s. D.
Agar-agar sôro	Colonias abundantissimas. Mais volumosas no mesmo numero de horas (22) que em qualquer outro meio. A differença com o desenvolvimento no meio de LOEFFLER é sensivel. Colonias translucidas, redondas. Zona mais escura no centro. Colonias de 22 horas com 5 millimetros.	—	—	—
Caldo glycerinado.	Como no bacillo Patrocinio.	—	Turvação em 24 horas homogenea. Formação de fina pellicula. Deposito floconoso. Augmento desses caracteres nos dias seguintes.	Como no Bacillo p. D.

	Bacillo Patrocinio	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo M.
Agar-agar Glycerinado	Colonias pequenas translucidas, arredondadas. Desenho interno uniforme (48 horas). Ha confluencia das mesmas. Lembram pela delicadeza, as colonias dos bacillos dysentericos.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio	Como no bacillo Patrocinio Menos na côr, aqui "baça", e tambem por isso, menos transparente.
Leite.	48 horas coagulação. Côr integra. 10 dias após, na mesma.	Como no bacillo P.	Não coagula em 48 horas, nem depois.	Como no bacillo Patrocinio.

	Bacillo Patrocinio	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo M.
Caldo simples	Em 24 horas turvação egual, sem pellicula. 41 dias após, pellicula na superficie, branca, enrugada.	Como no bacillo P.	Turvação por egual sem formação de pellicula na superficie.	Turvação por egual. 48 horas após, formação de pellicula.
SABOURAUD com maltose e com rapadura	—	Como no bacillo P.	Não se presta ao desenvolvimento dos bacillos, colonias tenues.	—
DRIGALSKY-CONRADI.	Como no Bacillo M.	Germina bem. Colonias pequenas, arredondadas, translucidas de uma tonalidade azul. Meio inalterado.	Como no bacillo X.	24 horas colonias pequenas, arredondadas. Meio integro. Germinação abundante. Envermelhecimento do meio, em massa, em 48 horas.
	Bacillo G.	**Bacillo 66.**	**Bacillo p. D.**	**Bacillo D. s.**
Agar Glycerinado.	Como no bacillo Patrocinio.	—	Como no agar simples.	Como no agar simples.
Leite	Como no bacillo P.	48 horas inalterado.	Coagulado em 24 horas.	Coagulado em 24 horas.
Caldo simples	Como no bacillo P.	Em 24 horas ha turvação uniforme. Formação de pellicula fina, em 48 horas, na superficie do meio.	Como no caldo glycerinado.	Como no caldo glycerinado.
SABOURAUD com maltose e S. com rapadura.	Como no bacillo P.	Não ha desenvolvimento apreciavel.	Pouco desenvimento. Estria estreita esbranquiçada, de bordas regulares. Com o tempo e um augmento de 6 diametros, distinguiam se bem as colonias isoladas.	Como no bacillo s. D.

	Bacillo G.	Bacillo 66.	Bacillo p. D.	Bacillo s. D.
DRIGALSKY-CONRADI	Como no bacillo P.	—	Não modifica o meio. Quando em superficie, ha formação de delgado lençol azul desmaiado. Com o tempo as colonias isoladas são azuladas, circulares, lisas, de tamanho vario.	Como no bacillo s. D.

	Bacillo Patrocinio	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo M.
Aquecimento durante 30 minutos a 50º.	Não morre	Não morre	Não morre	Não morre
Aquecimento durante 5 minutos a 60º.	Morre.	Morre.	Morre.	Morre.
Pesquiza do indol (technica de Fleig Furfurol)	Cultura de 30 dias em caldo: traços.	Não produz.	Não produz	Não produz, em pouco tempo. No fim de muitos dias ha formação de traços.
Presença de capsula	Não tem.	Não tem	Não tem	Não tem.
Presença de cilios (technica de van ERMEGHEM e TRIBONDEAU-FONTANA).	Não tem. Bacillos com uma parte central mais escura, delgada, e outra peripherica mais larga e clara.	Não tem. Como no bacillo Patrocinio.	Não tem. Como no bacillo Patrocinio.	Não tem. Como no bacillo Patrocinio.

	Bacillo 66.	Bacillo p. D.	Bacillo s. D.	Bacillo G.
Aquecimento á 50º durante 30 minutos.	Morre	Morre	Morre	Não morre
Aquecimento durante 5 minutos a 60º.	Morre	Morre	Morre	Morre

	Bacillo 66.	Bacillo p. D.	Bacillo s. D.	Bacillo G.
Pesquiza do indol (technica de Fleig furfurol)	Não produz.	Não produz.	Não produz.	Não produz
Presença de capsula	Não tem.	Não tem.	Não tem.	Não tem.
Presença de cilios (technica de van ERMEGHEN e TRIBONDEAU-FONTANA).	Não tem.	Não tem.	Não tem.	Não tem.
Meio de ENDO	Como no bacillo M.	Em 24 horas, colonias altas, vermelhas, circulares de 0,5 a 1 millimetro de diametro.	Como no bacillo p. D.	Como no bacillo M.

	Bacillo Patrocinio	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo M.
Meio de ENDO	Colonias como no bacillo M. Ligeiros tons roseos do meio.	Como no bacillo M.	Como no bacillo M.	Colonias pequenas, transparentes. Germinação abundante. Meio inalterado.
Methodo de GRAM	Não toma.	Não toma.	Não toma.	Não toma.

	Bacillo G.	Bacillo 66.	Bacillo p. D.	Bacillo s. D.
Methodo de GRAM	Não toma.	Não toma.	Não toma.	Não toma.

	Bacillo Patrocinio	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo M.
Resistencia nas sementeiras, dentro dos laboratorios	Morre em 3 mezes e 7 dias dentro do laboratorio.	Morre com 64 dias de laboratorio.	Morre com 3 meses e 7 dias.	Como no bacillo P.

	Bacillo Patrocinio	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo M.
Resistencia ao frio (FRIGO de MORGENROTH).	Resiste durante 48 horas a temperatura de 3º acima de zero.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.
Movimentos	Accentuadissimos movimentos brownianos.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.
Poder pathogenico. Coelho (*Oryctolagus cuniculus* Linneu, 1766).	Muito. Morto em 4 a 6 dias.	Morte em 4 a 6 dias.	Muito (ha sempre edema local). Morte em 4 a 6 dias.	Morte em 4 a 6 dias.
Esporos	Não produz.	Não produz.	Não produz.	Não produz.
Agar-agar simples	Como no bacillo 66.	Como no bacillo 66.	Como no bacillo 66.	Como no bacillo 66.
ZIEHL-NELSON ou FONTES.	Negativa.	Negativa.	Negativa.	Negativa.

	Bacillo G.	Bacillo 66.	Bacillo p. S.	Bacillo s. S.
Resistencia nas sementeiras dentro dos laboratorios.	Como no bacillo P.	Morreu com 30 dias.	Ainda vivem com 4 mezes de laboratorio.	Ainda vivem com 4 mezes de laboratorio.
Resistencia ao frio (Frigo de MORGENROTH).	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.	Não se desenvolveu a 4º no Frigo. Arrastadamente em temperaturas mais altas, proximas dessas. Não morre durante 4 dias na temperatura de 4º.	Como no bacillo p. S.
Movimentos	Como no bacillo Patrocinio.	Movimentos de lateralidade.	Immovel.	Immovel.

	Bacillo G.	Bacillo 66.	Bacillo p. S.	Bacillo s. S.
Poder pathogenico para os coelhos *(Oryctolagus cuniculus* Linneu).	Como no bacillo P.	Muito pathogenico. Uma alça de platina de uma cultura de 24 horas, mata, em 45 horas um coelho de 500 a 800 grs. de peso.	Muito virulento. Morte em menos de 24 horas.	Muito pouco virulento. Coelho resiste. Grandes doses.
Esporos	Não produz.	Não produz.	Não produz.	Não produz.
Agar-agar simples	Como no bacillo 66.	Colonias pequenas, arredondadas, translucidas, não confluentes (48 h. a 37°.) Sem cheiro. Lembram, no mesmo tempo de desenvolvimento, as colonias do cholera das galinhas.	Em superficie: lençol branco, pouco espesso, homogeneo (24 h.), desprendendo-se facilmente pela agua de condensação. Estria (agar inclinado) bem formada, larga de 30 a 50 millimetros, branca, bordos quasi regulares, e pouco ondulosos.	Como no bacillo p. S.

	Bacillo G.	Bacillo 66.	Bacillo p. S.	Bacillo s. D.
Agar-agar Simples	—	—	Colonias insuladas circulares, com 0,25 a 0,50 de centimetro de diametro, semi opacas, esbranquiçadas. Agua de condensação turva. Pellicula e deposito floconoso.	Como no bacillo p. S.
ZIEHL-NELSON ou FONTES.	Negativa.	Negativa.	Negativa.	Negativa.
Methodo de Claudius.	—	—	Negativa.	Negativa.

	Bacillo Patrocinio	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo M.
Poder pathogenico para os bezerros. (*)	Virulencia quasi nulla. Doses macissas e reações quasi nullas.	Virulencia apagada. 1 c.c. de emulção espessa pode provocar pequenos abcessos cutaneos.	Como no bacillo X.	Como no bacillo Patrocinio
Poder pathogenico para os ratos brancos.	Não é pathogenico.	Não é pathogenico.	Não é pathogenico.	Não é pathogenico.
Anaerobiose.	Desenvolve-se bem.	Desenvolve-se bem.	Desenvolve-se bem.	Desenvolve-se bem.
Tamanho.	0,5 micron (media).	0,5 micron (media).	0,5 micron (media).	0,5 micron (media).
Fórma	Pequeno cocco – bacillo, de extremidades arredondadas.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.
Filtrabilidade em velas BERKEFELD e CHAMBERLAN.	Não atravessa.	Não atravessa.	Não atravessa.	Não atravessa.
Agua peptonada	Turva egualmente sem deposito.	Turva egualmente sem deposito.	Turva egualmente sem deposito.	Turva egualmente sem deposito.

	Bacillo Patrocinio	Bacillo X.	Bacillo P.	Bacillo M.
BARSIEKOW. I	Não fermenta.	Não fermenta.	Não fermenta.	Não fermenta.
BARSIEKOW. II	Não fermenta.	Não fermenta.	Não fermenta.	Não fermenta.

	Bacillo C.	Bacillo 66.	Bacillo p. S.	Bacillo s. S.
Poder pathogenico para os bezerros.	Como no bacillo X.	Nulla. Dose massiça não produz siquer reacção local.	Nulla	Nulla

(*) Os bezerros eram trazidos para o laboratorio ainda pequenos, e ahi permaneciam durante largo tempo em observação para temperatura e estado geral.

	Bacillo C.	Bacillo 66.	Bacillo p. S.	Bacillo s. S.
Poder pathogenico para os ratos brancos.	Nullo	—	Muito pathogenico; isola-se o germen de todos os orgãos.	Como no bacillo p. S.
Anaerobiose.	Desenvolve-se bem	Desenvolve-se bem.	Desenvolve-se bem	Desenvolve-se bem
Tamanho.	0,5 micron (em media)	0,5 micron (em media)	Menor—0,4 micron Media—0,97micron. Maior—1,6 micron.	Media—0,97 de Mic. Menor—0,3 de Mic. Maior (caldo) 1,7 micron.

	Bacillo G.	Bacillo 66.	Bacillo p. S.	Bacillo s. S.
Fórma	Como no bacillo Patrocinio.	Como no bacillo Patrocinio.	Bacillo pequenissimo, extremidades arredondadas. A's vezes semelhante a coccus. Não raro, em 24 horas, fórmas de estrepto-bacillo, (3 a 4 elementos). Culturas velhas, estrepto-bacillo com 40 a 50 elementos.	Como no bacillo p. S.
Gelose LIGNIÈRES.	—	—	Em 24 horas, fraco desenvolvimento. Menos que no agar simples.	Como no bacillo p. S.
Filtrabilidade em velas BERKEFELD e CHAMBERLAND.	Não atravessa	Não atravessa	Não atravessa	Não atravessa
Agua peptonada	Turva egualmente sem deposito (em 24 horas) nem pellicula.	Como no bacillo. G.	Como no bacillo G.	Como no bacillo G.
BARSIEKOW. I	Não fermenta.	Não fermenta.	Não modifica o meio. Ha turvação e formação de pellicula.	Como no bacillo p. S.
BARSIEKOW. II	Não fermenta.	Não fermenta.	Como neste bacillo em BARSIEKOW. I	Como em BARSIEKOW. I

São as seguintes as origens dos bacillos com que trabalhámos:

Patrocinio (bacillo) Estalão vindo da cidade de Patrocinio, Estado de Minas.

X. (bacillo) Estalão obtido pela passagem em coelho do bacillo *Primitivo.*

P. (Primitivo bacillo) Estalão obtido de um bezerro com polmões abertos (suppurados) nos arredores de Bello Horizonte.

M. (bacillo) Estalão obtido de outro bezerro.

G. (bacillo) Estalão obtido pela passagem em coelho do bacillo *X. (2ª. passagem).*

66 (bacillo) Estalão obtido dos polmões do bezerro Nº. 66.

p. D. (bacillo) Estalão obtido do pus do boi D.

s. D. (bacillo) Estalão insulado do sangue do boi D.

Foram pois em numero de 8 as amostras com as quaes trabalhámos. Do conjuncto desse quadro, podemos, com segurança, affirmar que existem raças de bacillos do typo VRYBURG, e não apenas uma unica raça fixa, como a principio suppuzemos.

Vê-se, por exemplo, que a passagem pelos coelhos, daquelle bacillo, pode-lhe modificar certas propriedades.

Os bacillos, como se deprehende do quadro acima sobre as origens dos estalões, foram insulados ora de lesões abertas, ora das lesões fechadas. dos bezerros, e, algumas vezes, dos coelhos (orgãos differentes).

E' preciso assignalar que os bacillos do typo VRYBURG só puderam ser obtidos de um numero muito restricto de casos (molestia natural dos bezerros).

Vezes sem conta só era possivel insular anaerobios, e, isso mesmo, após a nossa verificação de taes germens no pus dos Polmões.

Não nos foi possivel insular dos orgãos dos animaes mortos com a molestia natural ou experimental (bezerros). Dos orgãos dos animaes communs de laboratorio obtem-se com relativa facilidade. Uma unica vez insulámos um bacillo de VRYBURG do sangue de um bovideo (com a molestia natural).

Junto seguem-se quadros sobre as hemoculturas e sementeiras dos orgãos vizando os bacillos do typo VRYBURG. Os meios de cultura empregados foram a principio os de aerobiose. Por ultimo, empregavamos os meios para aerobios e anaerobios. Empregámos: caldo, agar, agar glycerinado, sôro de LOEFFLER, SABOURAUD com maltose, SABOURAUD com rapadura, NOGUCHI, caldo glycosado, agar de LIGNIÉRES, agar com sôro, caldo com sangue, etc.

A technica para a colheita e semeadura do sangue era a seguinte:

O animal era recolhido a um local abrigado, quando possivel para uma dependencia do laboratorio (sala de operações). Preso convenientemente a um apparelho de contenção, raspavamos-lhe, com a navalha, os pellos do pescoço ao longo da veia jugular externa. Si notavamos muito pello desprendido e esparso no dorso do animal, préviamente, davamos-lhe um banho para limpeza.

Applicávamos tintura de iodo na região do pescoço que havia sido raspada. (tintura de iodo a 1 p. 12). Decorridos uns minutos, queimavamos o local da futura espetadela, com um ferro super-aquecido. Só então, após a compressão da base do pescoço, e turgencia da veia jugular externa, procediamos á puncção venosa, com seringa préviamente esterilizada no autoclave á temperatura de 120º. durante 20 minutos. As sementeiras eram feitas nos meios já citados, inclusive balões de caldo com cerca de 50c.c. de liquido.

As culturas eram levadas immediatamente á estufa, a 37º., onde permaneciam por largo espaço de tempo. Verificavamos diariamente, macro, e, quando

necessario, microscopicamente, a esterilidade dos meios de culturas.

O que interessa bastante no caso, é não termos insulado, nas condições optimas em que nos collocamos, o bacillo de VRYBURG ou outro qualquer microbio em 21 casos dos 24 apresentados. Num caso houve evidente contaminação por um germen commum *(Bacillus subtilis)* insulando na mesma occasião, do mesmo caso, um typo de bacillo maior que o de VRYBURG e com o typo perfeito das pasteurellas. Noutra vez obtivemos um bacillo GRAM positivo, muito movel, provavelmente vindo do intestino. De outra feita separámos do sangue de um boi com a fórma chronica, modalidade cutanea, o «*Staphylococcus pyogenes albus*», e um bacillo verificadamente do typo VRYBURG.

Os animaes eram trazidos para experiencia em periodos varios da molestia. Preferiamos sempre o febril, grave, da molestia natural ou experimental. Mais de uma colheita fizemos em um mesmo animal, variando a hora e dia.

Devemos lembrar que todos quantos trabalham em sorotherapia sabem a bôa technica que exige que se afaste o mais possivel a colheita do sangue dos periodos de tempo proximos ás refeições, nos quaes o sangue pode apresentar germens circulantes. No nosso caso não nos limitámos a ter esses cuidados apenas com o sangue. Afastamos da nossa observação os casos de cachexia e os no periodo de agonia. O resultado apresentado foi, pois, obtido pela selecção de muitos casos, e representa uma contribuição modesta mas rigorosamente precisa. As inoculações do sangue, de bois doentes, em coelhos, com resultado negativo demonstram ainda muito bem a ausencia na circulação não apenas dos bacillos do typo de VRYBURG como tambem de qualquer outro microbio a que se queira attribuir a etiologia da molestia. Outro facto interessante que se deprehende dos resultados das hemoculturas, é o da esterilidade do sangue na quasi totalidade dos casos.

Com tantos grandes focos purulentos, é admiravel que os animaes evitem um facto que deveria ser communissimo (principalmente numa das fórmas da molestia—a fórma chronica, modalidade cutanea)— a *Microbiemia.*

Talvez naquellas casas verdadeiras que cercam o pus, desde seu inicio, bainhas fibrosas resistentes, se encontre o segredo dessa anomalia.

Hemoculturas

Numero de ordem	Nome do animal	Fórma da doença	Resultado
No. 1	No. 1	Aguda experimental. Morte em 48 horas.	Negativo (estereis)
No. 2	No. 2	Chronica, natural.	Negativo (estereis)
No. 3	No. 23	Fórma chronica.	Positivo. Bacillo GRAM positivo, longo extremidades cortadas a pique colonias semelhantes ao *B. anthracis.* Muito movel.
No. 4	No. 22	Fórma chronica.	Negativo
No. 5	X (Currali-nho).	Fórma chronica.	Negativo
No. 6	XI (Instituto O. Cruz, Filial).	Fórma chronica.	Negativo
No. 7	XII (Instituto O. Cruz, Filial).	Fórma chronica.	Negativo
No. 8	XVI	Fórma chronica.	Negativo
No. 9	XVIII (Instituto O. Cruz, Filial).	Fórma chronica.	Negativo

Numero de ordem	Nome do animal	Fórma da doença	Resultado
No. 10	XIX (Instituto O. Cruz, Filial).	Fórma chronica.	Negativo
No. 11	XX (Instituto O. Cruz).	Fórma chronica.	Negativo
No. 12	XVI (Posto de Observação e enfermaria veterinaria) Bello Horizonte	Fórma chronica.	Negativo
No. 13	XVII (Posto)	Fórma chronica.	Negativo
No. 14	VIII (Posto)	Fórma chronica.	Negativo
No. 15	Boi F. S. I.	Fórma chronica.	Positivo. Insulámos um bacillo GRAM positivo, de contaminação, e um typo Pasteurella, maior que o typo Vryburg.
No. 16	Boi F. S. I.	Fórma chronica.	Negativa (estereis)
No. 17	Bode I (caprino)	Fórma chronica.	Negativa
No. 18	No. 26 (Posto)	Fórma chronica.	Negativa
No. 19	No. 56	Fórma chronica.	Negativa
No. 20	No. 66	Fórma chronica.	Negativa
No. 21	No. 62	Fórma chronica.	Negativa
No. 22	Boi D.	Fórma chronica (modalidade cutanea)	Negativa Positiva Insulámos Bacillo do typo Vryburg e o *Staphylococcus pyogeus albus.*
No. 23	Bezerro No. 1. Pelotas (Rio Grande do Sul).	Fórma chronica. (modalidade cutanea)	Negativa
No. 24	Bezerro No. 2. Pelotas (Rio Grande do Sul).	Fórma chronica (modalidade cutanea).	Negativo

Devemos lembrar comtudo, que a presença de um germen no sangue circulante não é prova provada de ser o mesmo, agente etiologico da molestia. As hemoculturas negativas têm valor grande; não absoluto. As hemoculturas positivas têm valor importante; não todavia, decisivo.

Na influenza pandemica, na febre amarella, no hog-cholera, na influenza dos cavallos, na malaria, etc., encontram-se no sangue circulante germens que nada têm que ver com a etiologia daquellas molestias.

Quanto ao insulamento dos orgãos dos animaes mortos com qualquer das fórmas clinicas, nunca conseguimos bacillo do typo VRYBURG (vide adeante os protocollos das necropsias sobre esse ponto) salvo para o boi D, cuja necropsia foi posterior a essas linhas.

As necropsias, e fizemol-as numerosas, (uma meia centena, si bem que nem todas aproveitadas), seguiram sempre as boas regras, que nos mandam pratical-as para logo que se verifique a morte. Nalguns casos foram praticadas immediatamente após, quando ainda se via o coração mal estacado e ainda quente.

As necropsias permaneciam estereis (sem que germinasse um unico microbio

nos tubos de culturas semeados). Noutros casos insulámos germens varios sem predilecção ou predominancia de tal ou qual typo.

Ha dois orgãos que fornecem, quasi sempre, contaminações varias. Em 1º lugar os pulmões.

A vizinhança do ar atmospherico e relações destes orgãos explicam facilmente o facto.

Em segundo logar, vem o figado. Entre os germens insulados dos orgãos convem assignalar: um diplococcus, pequeno, GRAM positivo. Um bacillo, pequeno, immovel e um GRAM positivo.

O primeiro destes microbios é digno de nota sobretudo, porque ha casos, onde no pus em condições de aerobiose, insula-se um tal germen em culturas puras (placas de agar-agar glycerinado).

ETIOPATHOGENIA

A acção pathogenica dos bacillos do typo VRYBURG é bem apreciavel para o coelho.

A constancia dessa acção pathogenica, em todas as amostras, é digna de registo.

O rato branco já é menos sensivel. Só algumas amostras são pathogenicas para esses animaes. O porco da India, o cavallo e o bezerro estão mais ou menos no mesmo plano. O porco é insensivel, ainda quando em periodo de amammentação, a doses consideraveis de culturas desse bacillo. Com culturas virulentas desse microbio, e assim o são algumas das insuladas directamente dos polmões, as inoculações no coelho repetem com notavel constancia uma syndrome interessante. Algumas horas após a inoculação, já se nota tristeza, pellos arrepiados nos animaes em experiencia. A temperatura varia. Tem muita importancia para o estudo dessa syndrome, o modo da inoculação. Experimentámos differentes vias: intra-venosa, intra-cardiaca, intra-muscular, intra-peritoneal e sub-cutanea.

Esta ultima, ao nosso ver, para os effeitos a que nos propomos, é a melhor.

Nas culturas de fraca ou quasi nulla virulencia (e são o maior numero) ainda essa via é a que dá alguma demonstração do microbio. O tempo de duração da molestia experimental, no coelho, varia com a virulencia da cultura e o tamanho do animal. Quanto mais novo um coelho, tanto mais fraca resistencia oppõe ás infecções pelos bacillos do typo VRYBURG. Desde as minimas reacções cutaneas *até a morte em pouco tempo* é possivel observar, variando as culturas e as doses. A região preferida para as inoculações era a região do ventre.

Epilavamos convenientemente a região (numa vasta zona). Passavamos uma solução diluida de creolina por todo o ventre do animal. Secco o local, pincelàvamos com tintura de iodo, após o que procediamos a injecção por via sub-cutanea.

A regra é que doses minimas de bacillo provocam minimas lesões congestivas locaes.

Mesmo com culturas de regular virulencia ha necessidade do emprego de doses regulares para provocar a syndrome typo. Em verdade devemos assignalar todavia, os casos excepcionaes onde *(bacillo 66)* uma alça de platina mata um coelho dé 600 grs. em 45 horas (via sub-cutanea.).

A regra porêm é 0,5 a 1 cc. de uma cultura, em caldo ou agar-agar (emulsão em sôro physiologico ou no proprio caldo), matar um coelho do peso medio de 600 grs. em 4 a 7 dias. Pouco tempo após as inoculações virulentas, o animal, como já dissemos, apresenta-se tristonho, com pellos arrepiados. Come pouco e amontoa-se no fundo da gaiola. vinte e poucas horas depois da inoculação nota-se a formação de um edema duro, avermelhado, ás vezes azulado, no ponto da injecção. Este edema cresce com os dias, formando um verdadeiro

polmão. Casos ha em que se ulcera e extravaza pus fetido, hemorrhagico.

As mais das vezes permanece fechado até o dia da morte. Nota-se que os glanglios das proximidades ficam augmentados de volume. O edema, a principio duro e resistente, torna-se com o tempo, mais e mais fluctuante, até que se percebe, francamente, no interior delle a presença de uma substancia semiliquida. Quando a dose microbiana é insufficiente, ou o microbio de fraca virulencia, a lesão se limita a infiltração e derrame. Ha casos em que se constitue um edema duro, no ponto da inoculação que assim permanece limitado, com ou sem infiltração hemorrhagica, durante largo tempo, desapparecendo ao depois, sem deixar vestigio. Nos casos levissimos ha somente ligeira infiltração hemorrhagica local, sub-cutanea, que para logo se apaga. O coelho em geral perde de peso. A temperatura tende mais e mais a baixar podendo attingir a 36° e poucos decimos. Algumas vezes, mesmo havendo cicatrização do verdadeiro *cancro* local, o animal morre cachetico no fim de muitos dias (perde 20 a 30% do peso primitivo do corpo), 10 a 15, não mais. As lesões apresentadas pelos animaes mortos pelos bacillos typo VRYBURG, são dignas de registo. A infiltração sanguinea extende-se, não raro, por toda parede do ventre. Quando ha perfuração desta, segue-se uma peritonite generalizada purulenta. No commum dos casos, o abcesso enkysta-se.

Fórma-se em torno da massa purulenta uma ganga espessa e protectora. Nesses casos o peritonio apresenta um derrame seroso. Egual derramamento vemos para o pericardio e pleuras. Pode-se encontrar uma multi-serosite. Dos orgãos abdominaes os mais lesados são os rins. Apresentam-se volumosos, com a superfice de corte vermelha intensa escura. Capsula difficilmente destacavel. Da superficie dos córtes escorre um liquido vermelho escuro, em abundancia. O tamanho dos rins é, ás vezes, notavel. Não raro vemol-os pontilhados de vermelho. As capsulas supra-renaes coisa alguma apresentam digna de registo. O figado apresenta-se turgido, volumoso, friavel. O baço com pequeno augmento sendo que o commum, é apresentar-se normal. Nas peritonites purulentas, com derramamento hemorrhagico, os intestinos mostram-se hyperemiados.

Os pulmões apresentam-se congestos de alto a baixo ou por zonas.

Casos ha onde, disseminados pelo parenchyma roseo, vemos focos congestivos, de côr vermelho-escura. O aspecto é typico. Nas inoculações intra-cardiacas ha pericardite purulenta violentissima. Na passagem, a agulha semeia o germen. Dahi a lesão do pericardio. Forma-se muitas vezes um grande abcesso localizado que toma todo o mediastino, num bloco espesso e unico.

A inoculação de culturas mortas provoca óra um abcesso localizado, ora uma peritonite serosa, de accordo com o ponto de inoculação, levando o coelho, nalguns casos, á morte. E' muito difficil insular os bacillos dos orgãos dos coelhos. Encontramol-os sempre nos focos dos abcessos, das peritonites, das pericardites. Elle é, por excellencia, um parasita localizado nos tecidos.

No pus dos abcessos dos coelhos, predominam os leucocytos monolobados.

Procurámos pela passagem em coelhos, exaltar a virulencia do germen.

Não conseguimos factos decisivos. Vimos, no começo dessa exposição, que existem culturas, recentemente insuladas, capazes de matar um coelho de 600 a 800 grs. em 45 horas, com a syndrome typica, na dose de uma alça de platina Foi esse, aliás, o lapso de tempo menor que conseguimos, entre a inoculação e a morte dos animaes em experiencia. Esta syndrome, que se obtem nos coelhos com culturas puras de bacillo do typo VRYBURG, obtem-se egualmente com o pús directamente colhido dos

polmões. Aqui porêm, a syndrome apresenta-se com dobrada violencia. Ha verdadeira pyoemia.

As inoculações intra-peritonieaes, nos coelhos (dos bacillos), nem sempre são fataes aos mesmos. Tres coelhos, que chamaremos nos 50, 51, e 52, com 400, 393 e 300 grs. respectivamente, resistem á dose de 2 a 3 c.c. de cultura mixta, virulenta, por essa via. As inoculações intra-peritoneaes, porêm, quando positivas, provocam uma peritonite generalizada purulenta. A via intra-muscular assemelha-se pelos effeitos, á subcutanea. A via intra-venosa, não é, o que poderia parecer um contrasenso, a via optima para exaltar a virulencia. Tivemos casos (coelho 61) onde essa via foi improductiva; 2,5 cc. da emulsão em sôro physiologico a 8,5 o/oo, de cultura recentemente insulada do bezerro, não bastaram para matar um coelho.

A mesma emulsão matava todavia, o coelho e até o porco da India, em 4 dias, quando por via sub-cutanea. Qual seria a interpretação exacta do facto que ahi deixamos esboçado? Será que no sangue a bacteriolyse pelos phagocytos ou pelos humores seja mais facil que sob a pelle? Ou será ainda que sendo os bacillos do typo VRYBURG mais histoparasitas não encontrem no sangue, por causas outras, como na pelle, um meio proprio ás primeiras adaptações no novo organismo? Ou dependerá tudo da raça de microbios e coelhos?

Acreditamos haver um pouco de tudo isso na essencia do phenomeno (*). Fizemos inoculações subcutaneas e intra-peritonieaes, por outro lado, com doses altas de emulsões microbianas vivas, multivalentes, cujas virulencias já se haviam préviamente demonstrado em bom numero de experiencias com resultados inteiramente negativos.

E' assim que inoculamos a 10—6—1918, 4 coelhos com emulsões ricas, de cerca de 5 amostras de bacillos do typo VRYBURG, virulentos. (2 foram inoculados por via sub-cutanea, 2 foram inoculados por via intra-peritoneal).

Os dois primeiros levaram 3 e 4 cc. respectivamente de emulsão; os dois ultimos, 3 cc. cada um. Todos tiveram, no fim de muito tempo, alta sem ter apresentado qualquer symptoma da syndrome acima descripta. Foi justamente essa irregularidade de acção morbigena, que nos levou, nas experiencias de sôro-vaccinação com esses bacillos, a não conseguirmos resultados decisivos, comparaveis.

Os ratos brancos, são, na maioria dos casos, insensiveis aos bacillos do typo VRYBURG. De 8 amostras, 6 mostraram-se avirulentas. A morte do rato branco verifica-se em media, pelo 10º dia após a inoculação. Póde, comtudo, dar-se pelo 20º dia.

Ha septicemia. De todos, ou de quasi todos os orgãos, insula-se, muitas vezes puro, o microbio. As lesões macroscopicas são minimas. Derramamentos para o peritoneu e congestões pulmonares. O porco, mesmo em periodo de amammentação, é insensivel ás injecções desses bacillos. Já não acontece o mesmo com o pus dos polmões, que póde matal-o quando inoculado em boa dose. O porco da India resiste muito mais que o coelho. A dose mortal para o coelho, proveniente de certa sementeira, não o é para o porco da India. Este exige dose muito mais alta, quando não é de todo insensivel aos microbios em experiencia. O cavallo é sensivel ao bacillo do typo VRYBURG. A obtenção de pequenos abcessos em poldros é um facto já conhecido. E' bom assignalar que não conseguimos facto algum digno de registo, mesmo em animaes pequenos desta especie, no que respeita ao aspecto clinico. No decurso dos processos de immunisa-

(*) Ha um facto semelhante com a peste dos porcos da India e o *Bacillus anthacis* (Besredka).

ção tivemos occasião de apurar dados interessantes que talvez convenha apontar.

Vamos dar pequenos pormenores, cuja leitura mais ou menos completa pode ser feita no protocollo do capitulo de immunizações. Assim o cavallo 13 foi inoculado, pela primeira vez, a 17—8—1917, após verificação cuidadosa do estado geral do animal. A dose foi de 2 c.c. de emulsão em sôro physiologico a 8,5 o/oo, de uma cultura de 24 horas em agar-agar aquecida durante 5 minutos á 60ºC. Inoculámos portanto uma cultura morta. Pouco tempo após á inoculação (revella o protocollo), mostrou-se o animal inquieto, triste, regeitando a comida.

A inoculação foi sub-cutanea, ao nivel da pá esquerda. Setenta e duas horas após, o animal tinha difficuldade em mover toda a pata esquerda anterior. Restabeleceu-se rapidamente. As inoculações foram, em seguida, intra-venosas, com culturas mortas e, finalmente, vivas. Injectavamos já no fim da decima segunda vez, intravenosamente, emulsões mixtas, ricas e vivas do producto da sementeira de 2 garrafas de ROUX (superficie), sem que o animal manifestasse symptomas alarmantes. No decorrer da immunização presenciámos phenomenos de verdadeira anaphylaxia devida, talvez, á percentagem de agar-agar, que no preparo das emulsões bacterianas sem o querer, introduziamos. Já BESREDKA (24) chamava a attenção e dava remedios para os phenomenos geraes de anaphylaxia, communs nas immunizações, principalmente por via intra-venosa. A technica por elle recommendada, temos usado, com vantagens assimilaveis no preparo, não apenas do presente sôro, senão tambem no dos sôros precipitantes, etc. Este animal morreu, no fim da 17ª inoculação com a mesma technica e mesma quantidade de germens, com nephrite dupla suppurada á direita. Noutro cavallo (14), inoculamos pela primeira vez a 31—5—918, 4 c.c. de emulsão em sôro physiologico (via sub-cutanea), de uma cultura de 24 hr. aquecida a 60ºC. durante 5 minutos.

A reacção local foi violenta. Houve tumefacção, calor, fluctuação. Formou-se um grande abcesso, com pus fetido, aquoso. Houve edema da pata em correspondencia com o foco suppurativo. O estado geral resentiu-se. Houve falta de appetite.

Na 3ª injecção, inoculámos culturas vivas, material proveniente de 8 tubos de agar-agar inclinado. Houve edema apenas. Por fim inoculámos culturas vivas por via intra-venosa (technica de DESREDKA), sem grande prejuizzo para o animal.

Como se deprehende desta resenha, os bacillos typo VRYBURG são pathogenicos para o cavallo. Mesmo uma cultura morta não perde essa principal qualidade dos bacillos, produzirem pus (pyogenica). Chamamos, todavia, a attenção para a syndrome provocada no cavallo pelos bacillos em estudo. Ella não tem senão longinqua semelhança com a peste dos polmões dos bois. O mesmo podemos dizer para os bezerros. Nem todos os animaes desta raça, mesmo em periodo de lactação, mostram-se sensiveis aos bacillos typo VRYBURG. Tivemos numerosas experiencias completamente negativas ainda quando lançassemos mão de doses massiças e culturas virulentas (passagem em coelhos e recentemente insulados). Eram culturas, que muita vez, matavam um coelho em 24 horas. A propriedade pyogenica não constitue o apanagio dos bacillos desse typo. Quer mesmo BORDET (ob. cit. pg. 22), que seja a regra geral, para a inoculação de qualquer microbio morto, a producção de pus.

Quadro dos bacillos do typo Vryburg, Diplococcus pulmonae, bacillo diphteroide, e um bacillo anaerobio que foram inoculados em bezerros de 1 anno maximo de edade.

Numero de ordem	Typo da cultura	Via da inoculação	Quantidade	Resultados
N. 1	Typo Vryburg.	Sub-cutanea	5 c.c. de emulsão em sôro physiologico de cultura de 24 horas em 3 pontos de cada lado do corpo. Ao todo 15 c.c. num bezerro.	Negativo. Alta.
N. 2	Bacillo Vryburg.	Sub-cutanea	Mesma quantidade	Mesmo resultado.
N. 3	Bacillo Vryburg.	Sub-cutanea	Mesma quantidade	Mesmo resultado
N. 4	Bacillo Vryburg.	Sub-cutanea	Mesma quantidade	Mesmo resultado.
N. 5	Diplococcus pulmonae.	Sub-cutanea	3 pontos 2 c.c. de um lado, 1 de outro; cultura em caldo, directa do pus.	Positivo. Abcessos nimios, phothographia n. 3 abcessos que se ulceraram. No pus encontramos tambem um bacillo GRAM negativo pequeno (graphico n. 52). Alta curado no fim de pouco tempo.
N. 6	Bacillo Typo Vryburg.	Sub-cutanea	Cultura de 24 horas emulsão em sôro physiologico 3 pontos com 3 c.c. cada um, ao todo 9 c.c.	Negativo. Alta.
N. 7	Bacillo Typo Vryburg.	Sub-cutanea	A mesma quantidade idem idem 1,5 c.c. em 1 ponto	Negativo. Alta.
N. 8	Diplococcos.	Sub-cutanea	2 pontos, 3 c.c. ao todo	Negativo. Alta.
N. 9	Microbio typo *Corynebacterium* (*bacillus pulmonarum*) *diphteroide.*	Sub-cutanea	Um ponto 4 c.c.	Negativo para peste dos polmões. Teve febre (Vid. Graphico N. 64).

(Continuação)

Numero de ordem	Typo da cultura	Via da inoculação	Quantidade	Resultados
N. 10	Bacillo typo Pasteurella isolado dos carrapatos.	Sub-cutanea	Um ponto, 8 c.c.	Negativo. Alta no fim de muito tempo.
N. 11	Bacillo do Typo Vryburg.	Sub-cutanea.	Em varios pontos. Ao todo 5 c.c.	Negativo. Alta curado.
N. 12	Bacillo do Typo Vryburg.	Sub-cutanea.	Em varios pontos. Ao todo 5 c.c.	Negativo. Alta curado.
N. 13	Bacillo do Typo Vryburg.	Sub-cutanea.	Em varios pontos. Ao todo 5 c.c.	Negativo. Alta curado.
N. 14	Bacillo do Typo Vryburg.	Sub-cutanea	Em varios pontos. Ao todo 5 c.c.	Negativo. Alta curado.
N. 15	Bacillo do Typo Vryburg.	Intra-venosa	5 c.c. de cultura em caldo.	Um mez e 24 dias após este bezerro nada apresentava digno de registro. Morreu alguns mezes após, sem que a necropsia revelasse lesão digna de registro. Dos orgãos não foi posivel isolar o bacillo do typo Vryburg.
N. 16	Bacillo do Typo Vryburg.	Intra-venosa	5 c.c. de cultura em caldo.	Negativa. Alta.
N. 17	Bacillo do Typo Vryburg.	Sub-cutanea	10 c.c. de emulsões em sôro physiologico a 8,5 °/oo de cultura de 24 horas em agar-agar. Diversos pontos.	O animal apresentou-se em breve coberto de bernes. (Larva da *Dermatobia hominis*). Era dificil descobrir si haviam abcessos minimos ou bernes. Do pus de algumas collecções isolámos bacillo do typo Vryburg. Alta no fim de algum tempo.

(Continuação)

Numero de ordem	Typo da cultura	Via de inoculação	Quantidade	Resultados
N. 18	Bacillo do Typo Vryburg.	Sub-cutanea	3 c.c. emulsão em caldo (propria cultura) varios pontos.	Nada apresentou. Alta.
N. 19	Bacillo do Typo Pasteurella	Sub-cutanea	3 c.c. de emulsão em caldo (propria cultura),	Nada apresentou. Alta.
N. 20	Bacillo do Typo Vryburg.	Sub-cutanea e intra-venosa.	5 c.c. para cada via. Ao todo 10 c.c. emulsão em sôro physiologico a 8,5 °/oo de uma cultura crescente em agar-agar.	Morreu em 14 dias Não apresentou. polmões. Teve febre de 41°C. e poucos decimos (Traçado N. 15). Não isolámos dos orgãos o bacillo do typo Vryburg. Culturas estereis.
N. 21	Bacillo do typo Vryburg (boi D.)	Intra-venosa.	1 cc. de emulsão em sôro physiologico a 8,5 °/oo de cultura em agar-agar de 24 horas.	Salvo ligeira hypothermia immediata nada mais apresentou. Estava magro quando entrou para o laboratorio. Está mais gordo.
N. 22	Bacillo diphteroide (*corynebacterium*) (boi D.)	Intra-venosa.	4 c.c. de cultura crescente em caldo.	Nada apresentou.
N. 23	Bacillo do typo Vryburg (boi D.)	Intra-venosa e sub-cutanea.	1 c.c. para cada via. 2 c.c. ao todo.	Salvo ligeira hypothermia 24 horas após, nada mais apresentou.
N. 24	Diplococcus pulmonae (boi D.)	Intra-venosa.	2 c.c. de cultura em caldo.	Nada apresentou.

(Continuação)

Numero de ordem	Typo da cultura	Via da inoculação	Quantidade	Resultados
N. 25	Bacillo do typo Vryburg (boi D.)	Sub-cutanea.	Emulsão como no N. 21, 3 c.c.	Nada apresentou em tempo. O animal não apresentou um symptoma siquer da peste dos polmões. Engordou na estadia no laboratorio. Morreu 3 mezes e 10 dias após, durante uma baixa da temperatura, repentina, de pneumonia lobar. Foi isolado o pneumococcus (*Diplococcus lanceolatus*). Não foi possivel isolar os bacillos com o typo Vryburg.

Em trabalhos de hyperimmunização colhemos tambem alguns dados que podem corroborar os que ahi ficam. Um bezerro, que chamaremos A1, morreu em menos de 24 horas com a inoculação de 5 c.c., intra-venosa, de uma cultura morta pelo aquecimento a 60°C. durante 5 minutos. Pela necropsia verificamos que predominavam as congestões pulmonares. Outro bezerro, que denominaremos A2, morreu na 16ª. inoculação, 3 dias após a injecção, tendo manifestado symptomas alarmantes immediatos, com nephrite aguda e degeneração gordurosa dos rins. Este bezerro supportára antes, no inicio da immunização, 4 c.c. de emulsão de cultura recente (em sôro physiologico a 8,5 o/oo da cultura de 24 horas, em agar-agar inclinado), aquecida a 60°C. durante 5 minutos, via intra-venosa, sem a menor manifestação morbida. A 5ª injecção foi já de cultura viva, via intra-venosa, e symptoma algum alarmante apresentou o animal. Outro bezerro, A 3, foi inoculado, no inicio, com 4 c.c. de cultura mixta (5 typos), via intra-muscular e coisa nenhuma apresentou de anormal. 11 dias após, pela segunda inoculação, supportou, sem inconveniente. 2 c.c. de cultura viva pela mesma via. Morreu pela 6ª. injecção, muitas semanas mais tarde, 20 horas após a inoculação intravenosa de 6 c.c. de emulsão de cultura mixta. Antes já, pela mesma via, havia elle supportado doses maiores do mesmo material, sem alteração digna de nota. Reinsulamos do coração, o bacillo com typo de VRYBURG. Apresentaremos finalmente o bezerro que chamamos de A4, o qual immunizado solidamente por 9 injecções em doses crescentes de culturas do typo VRYBURG (inclusive vivas, provenientes de 8 tubos de culturas

em agar-agar inclinado, de uma vez), contrahiu a molestia pela inoculação de material proveniente de animaes com a molestia natural. Devemos concluir de tudo isso que os bacillos do typo VRYBURG são pathogenicos para os bovideos. São mesmo capazes de matal-os. Produzem, nesses animaes, uma molestia. Não provocam todavia, a molestia peste dos polmões.

Mesmo assim, insistimos, é preciso trabalhar com culturas de notavel virulencia (artificialmente exaltadas, uma vez como as proprias culturas, directamente insuladas do pus, nem sempre, ou melhor frequentemente são avirulentas, mesmo para os coelhos). Dahi, o grande numero de provas negativas. Sob a pelle são capazes, mesmo em culturas mortas, de provocar abcessos minimos.

E' preciso aqui lembrar que os estaphylococcos são tambem insulados do pus e capazes de provocar, em culturas mortas, por inoculações subcutaneas, collecções purulentas. As injecções intravenosas são mais severas que as subcutaneas de emulsões dos bacillos do typo VRYBURG. Emquanto que naquellas, a regra é a cura (sem excepção nas nossas experiencias), nestas a morte é commummente observada, precoce ou tardia. A causa da morte nos bezerros em periodos de hyper-immunização, foi, sem duvida, o processo de nephrite suppurada que se estabeleceu nalguns casos, e a anaphylaxia, bem patente em outros. Verificámos tambem, pelo quadro anterior, que não apenas os bacillos do typo VRYBURG são capazes de provocar abcessos. Ha, nos polmões, outros germens pyogenicos, como o *Diplococcus polmonis* «b», pathogenicos para os bezerros (graphico N°. 21) e, o que mais é, capazes de produzir abcessos.

Não falamos no estaphylococco, no estreptococco, tambem pyogenicos e até no bacillo pyocyanico aos quaes nos referiremos mais adeante.

Nos bois, como nos cavallos, a acção dos bacillos do typo VRYBURG é muito semelhante. Nos bois, como nos cavallos, elles agem produzindo lesões graves, quando inoculados por via intravenosa, em dose regular. Citaremos ainda a seguinte experiencia que fizemos sobre o poder pathogenico dos bacillos. O boi N°. 400 era um zebú de grande porte. As doses pequenas das emulsões virulentas, coisa alguma digna de registo produziam. Inoculámos, por via intravenosa, 50 c.c. de uma cultura em caldo, com 60 dias de evolução, de uma unica vez. O animal manifestou, logo em seguida, diarrhea intensa, escura, fetida e falta de appetite.

Emmagreceu rapidamente e apresentou accentuada fraqueza. Morreu 48 horas após a inoculação virulenta, com intensas congestões renaes, esplenicas e pulmonares (derramamento gazoso entre a pleura e o pulmão). E' bem de ver que não iremos concluir dahi a razão etiologica dos bacillos do typo VRYBURG na peste dos polmões.

Já não nos referimos á acção que mesmo um bacillo coli communis, em tão alta dose, é capaz de produzir. Será bom não esquecer a acção do proprio caldo .

Se razões de ordem geral já não bastassem, teriamos, para assim pensar, a experiencia com o boi N°. 401. No dia 14—10—1919 foi elle inoculado, pela 1ª. vez, por via intra-venosa, com 20 c.c. de emulsão, em sôro physiologico a 8,5 o/oo, proveniente de uma cultura em agar-agar inclinado, do bacillo do typo VRYBURG, que germinára abundantemente durante 24 horas na estufa a 37°C. Nada apresentou digno de registo. No dia 18 do mesmo anno e mez, foi reinoculado com 5 c.c. de uma cultura em caldo de bacillos do typo VRYBURG, por via intra-venosa.

Taes foram, lógo após, os symptomas apresentados pelo animal, que

cuidamos vel-o succumbir, e que nos vimos na contingencia de suspender, por largo tempo, o serviço de hyperimmunização. Pensámos tambem, que a questão da exaltação da virulencia deve ser encarada por um certo prisma, e até um certo limite. E' facto universalmente sabido, que as passagens successivas pelos conferem poder pathologico á germens conferem poder pathogenico á germens, saprophytas, aos quaes nunca foi filiada molestia alguma conhecida.

IMMUNIDADE (BACILLO DO TYPO VRYBURG).

Foi um capitulo de que não nos descuidámos. Nada conhecemos na litteratura sobre o assumpto. Apresentamos um quadro de conjuncto sobre as agglutinações pesquizadas. A technica seguida foi a seguinte: as culturas eram feitas, a principio, no caldo. Semeavamos depois, no agar-agar inclinado. As sementeiras eram deixadas durante 24 ou 48 horas na estufa a 37°C. A emulsão era em sôro physiologico a 8,5 o/oo, préviamente esterilizado. Numa bateria de tubos para agglutinações, collocavamos 2 c.c. de soluções decrescentes em concentrações do sôro suspeito (1/20, 1/40, 1/80, etc.). As diluições guardavam, como se vê, uma certa relação. Em seguida juntavamos, *em todos os tubos,* 5, 6 ou 10 gottas, conforme o grau de concentração da emulsão, da mistura bacteriana.

Em todas as provas deixavamos testemunhos das emulsões bacterianas. Empregavamos banhos-maria á temperatura de 37°C. ou 55°C. Não encontrámos nessa ultima temperatura, vantagem alguma sobre a primeira. Ao lado das agglutinações, tentámos reacções de fixação de complemento, vaccinações activas, sôro-vaccinações, e sôro therapia.

Deprehende-se dessas agglutinações que: 1°) ha numerosos casos de peste dos polmões, doença natural, onde no sangue dos animaes doentes, em todos os periodos da molestia, não se encontram agglutininas para os bacillo do typo VRYBURG.

2°) Num caso (a) de molestia experimental, obtido pela inoculação de carrapatos (triturados em sôro physiologico) em animal sadio insulamos, dos polmões assim obtidos, um bacillo semelhante ao já insulado dos carrapatos, e que foi agglutinado, fracamente, a 1/1280, pelo sôro de um animal com a molestia natural (b).

Este ultimo (b) fôra o que nos fornecêra os carrapatos, com os quaes obtivemos os polmões experimentaes (a).

3°) E' possivel encontrar no sangue de bois normaes agglutininas para os bacillos do typo VRYBURG, permittindo agglutinações até 1/640.

4°) O titulo mais alto de agglutinações que conseguimos nos sôros de animaes hyperimmunizados contra os bacillos do typo VRYBURG, foi de 1/640.

5°) Ha estalões de bacillo do typo VRYBURG que agglutinam espontaneamente.

6°) Os bacillos da chamada cholera das gallinhas podem ser agglutinados a 1/40, pelo sôro dos animaes com a molestia experimental.

7°) Ha casos onde se processam as agglutinações mais fortes nos tubos com as diluições. (Não nos deteremos na explicação desses phenomenos por ser demais conhecida).

Temos tambem a fixação do complemento (25 e 26) entre os sôros dos animaes doentes e os bacillos do typo VRYBURG. Essas reacções seguiram a technica classica.

O systema hemolytico empregado foi o de sangue de carneiro x coelho.

Essas reacções foram tentadas ora entre os bacillos e sôro do mesmo bezerro, ora entre bacillos e sôros de animaes varios. Os resultados completamente negativos, em variadas circumstancias, obrigam-nos a suppôr que, ou só existem

Agglutinações

Numero de ordem	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Testemunhas da emulsão bacteriana.	Typo de bacillo com que foi feita a prova.	Sôro suspeito.
N. 1	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	Não agglutinou	Bacillo do Typo VRYBURG a	Molestia natural Bezerro n. 1
N. 2	+++	+++	+++	+++	+	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG b	Mesmo sôro.
N. 3	+++	+++	+++	+++	+	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG c	Mesmo sôro.
N. 4	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG a	Sôro boi Curralinho N. 2. Molestia natural.
N. 5	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou	Bacillo do Typo VRYBURG b	Mesmo sôro
N. 6	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou	Bacillo do Typo VRYBURG d	Mesmo sôro
N. 7	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG a	Sôro boi 3 Molestia natural.
N. 8	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG e	Sôro boi n. 3 Molestia natural.
N. 9	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG III insulado do coração do bezerro com morte por molestia experimental.	Sôro bezerro n. 5 Molestia natural.
N. 10	+++	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Como no bacillo do N. 9.	Sôro boi Hyperimmunizado X bacillo VRYBURG (N. 1).
N. 11 (*)	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG a	Sôro bezerro molestia experimental.
N. 12	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG b	Como em II.
N. 13	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG c	Como no numero II.
N. 14	+++	+++	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado de uma epizootia de gallinhas. Typo *pasteurella.*	Como no numero II.
N. 15	+++	+++	+++	+++	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG a	Bezerro n. 4 Molestia natural.
N. 16	+++	+++	+++	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG a	Bezerro n. 5. Molestia natural
N. 17	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	Não agglutinou.	Molestia experimental. Bacillo typo VRYBURG, insulado de um polmão do bezerro 14, inoculado com triturado de carrapato do boi de Curralhinho.	Sôro boi n. 10 normal
N. 18	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	Não agglutinou.	Molestia experimental. Bacillo do typo VRYBURG insulado do boi 14. Inoculado triturado carrapato boi Curralinho.	Sôro normal boi n. II.
N. 19	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG d	Sôro normal boi n. II.
N. 20	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG e	Sôro normal boi n. II.
N. 21	+++	+++	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG de bezerro 66.	Sôro bezerro n. 66. Molestia natural.
N. 22	+++	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado do carrapato. Differente do typo VRYBURG.	Sôro bezerro 66 Molestia natural.
N. 23	+++	+++	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do Typo VRYBURG do bezerro 66.	Sôro bezerro 64. Molestia natural.
N. 24	+++	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado do carrapato.	Sôro bezerro 64. Molestia natural.
N. 25	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado do triturado dos carrapatos.	Sôro bezerro n. 200. Molestia natural.
N. 26	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado de bezerro inoculado com anaerobio. n. 51 (o bacillo era anaerobio).	Sôro bezerro n. 200. Molestia natural.
N. 27	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do bezerro 52.	Sôro do bezerro. n. 200. Molestia natural.

(*) A 1/10 este bacillo foi agglutinado por esse sôro.

Agglutinações

Numero de ordem	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Testemunhas da emulsão bacteriana.	Typo de bacillo com que foi feita a prova.	Sôro suspeito.
N. 28	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Diplococcus pulmonae.	Sôro bezerro n. 200 Molestia natural.
N. 29	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado de carrapatos (movel)	Sôro bezerro n. 51 inoculado com o Diplococcus polmonae.?
N. 30	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado do bezerro n. 51.	Sôro do bezerro n. 51 inoculado com o Diplococcus polmonis.?
N. 31	+	+	+	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo typo VRYBURG. Insulado abcesso banal boi sadio H. W.	Mesmo sôro que o n. 29.
N. 32	++	+	++	+	+	+++	+++	Agglutinou expontaneamente.	Bacillo insulado de um coelho inoculado com Diplococcus polmonae.	Mesmo sôro que o do n. 29.
N. 33	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Agglutinou expontaneamente.	Como na prova n. 32.	Sôro bezerro n. 200. Molestia natural.
N. 34	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado pus abcesso banal vacca n. 1 (sadia).	Como na prova n. 33.
N. 35	++	+	++	+	+	++	+	Não agglutinou.	Typo VRYBURG. Proveniente boi n. 14 com polmões inoculado com triturado carrapatos retirados do boi n. 7, Curralinho. Molestia experimental.	Sôro boi n. 7 Curralinho do qual foram retirados os carrapatos infectantes do boi n. 14. Molestia natural.
N. 36	++	++	++	—	—	—	—	Não agglutinou.	Mesmo bacillo que na prova anterior, 35.	Sôro normal. Bezerro n. 300.
N, 37	++	++	++	—	—	—	—	Não agglutinou.	Mesmo bacillo que na prova n. 35.	Sôro normal. Bezerro n. 305.
N. 38	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	Houve intensa agglutinação expontanea.	Mesmo bacillo que na prova n. 35.	Sôro boi n. 309 F. Sá. Molestia natural.
N. 39	++	+	—	—	—	—	—	Não houve agglutinação.	Mesmo bacillo que na prova n. 35.	Sôro normal. Boi n. 306.
N. 40	++	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Mesmo bacillo que na prova n. 35.	Sôro boi n. 310 F. Sá. Molestia natural.
N. 41	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Mesmo que na prova n. 35.	Sôro do bode n. 3. F. Sá. POLMÕES. Molestia natural.
N. 42	++	++	++	—	—	—	—	Não agglutinou.	F. Sá. Bacillo do typo VRYBURG, obtido do pus polmões boi n. 307. Molestia natural.	Sôro boi n. 14.
N. 43	+++	+++	+++	+++	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado (movel) triturado carrapatos *(Boophilus microplus* e *Amblyoma cajannensis)* provenientes boi n. 310. Molestia natural.	Sôro normal boi n. 320.
N. 44	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Mesmo bacillo que na prova n. 43.	Sôro do boi n. 310. Molestia natural.
N. 45	+++	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Mesmo bacillo que na prova n. 43.	F. Sá. Sôro do boi n. 309. Molestia natural.
N. 46	++	++	++	+	—	—	—	Não agglutinou.	Mesmo bacillo que na prova n. 43.	Sôro do boi n. 14 (já citado).
N. 47	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	Não agglutinou.	Bacillo typo VRYBURG, insulado polmões bezerro n. 26.	Sôro bezerro n. 26, inoculado triturado de carrapatos. Molestia experimental, polmões typicos.
N. 48	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	Não agglutinou.	Molestia natural. Bacillo typo VRYBURG. Patrocinio.	Sôro bezerro n. 2. Hyperimmunizado X bacillos Patrocinio, Primitivo e Mate.
N. 49	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Mesmo bacillo que na prova n. 48.	Sôro normal boi. n. 320.
N. 50	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	Não agglutinou.	Bacillo Primitivo typo VRYBURG insulado de lesão ulcerada (polmão).	Sôro do bezerro n. 3. Como na prova n. 48.
N. 51 (**).	+++	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Typo como na prova n. 50.	Sôro normal do boi n. 322
N. 52	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	Não agglutinou.	Typo VRYBURG. Bacillo Mate.	Sôro do bezerro n. 2. Como na prova n. 48.
N. 53	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Typo VRYBURG. Bacillo Mate.	Sôro normal do boi n. 323
N, 54	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Typo VRYBURG. Patrocinio.	Sôro bezerro n. 330. Molestia natural.
N, 55	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Typo VRYBURG. Primitivo.	Sôro bezerro n. 330. Molestia natural.
N. 56	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Typo VRYBURG. Mate.	Sôro bezerro n. 33. Molestia natural.
N. 57.	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo do tamanho dos do typo VRYBURG. GRAM positivo. Isolado do pus da molestia natural.	Sôro do bezerro n. 330. Molestia natural.
N. 58	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	Diplococcus. Polmonae, a	Sôro do bezerro n. 330. Molestia natural.
N. 59	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	Não agglutinou.	Bacillo insulado pus do boi D. Typo VRYBURG.	Sôro do boi D. Molestia natural. POLMÕES.
N. 60	+++	+++	+++	+++	—	—	—	Não agglutinou.	Typo VRYBURG. Mesmo que na prova n. 59-	Sôro normal vacca holandeza em optimas condições.
N. 61	—	—	—	—	—	—	—	Não agglutinou.	*Staphylococcus pyogenes albus.* Insulado do sangue do boi D.	Sôro do boi D.
N. 62	+++	+++	+++	—	—	—	—	Não agglutinou.	Bacillo Typo VRYBURG, insulado do sangue do boi D.	Sôro do boi D.

Nº. de ordem	Nome ou nº. do bovideo.	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Test. da emuls bact.	Test. da dilul. de sôro susp.	Molestia	Germen
63	Nº. 1 P.	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	m. natural	Bacillo t. VRYBURG.
64	Nº. 2 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	« «	« « «
65	Nº. 3 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	« «	« « «
66	Nº. 5 P.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	m. experimental	"Diplococcus b".
67	Nº. 6 P.	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	Convalescente m. n. 15 dias após a cura idem.	« «
68	Nº. 7 P.	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	m. natural	« «
69	Nº. 8 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	« «	« «
70	Nº. 9 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	« «	« «
71	Nº. 10 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	« «	« «
72	Nº. 3 P.	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	m. experimental	« «
73	B. B. B.	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Boi normal.	« «
74	XP.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	m. natural	« «
75	XIIIP	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	m. n. fórma aguda.	« «

(**) O n. 51—Nesta prova o bacillo foi agglutinado a 1/30.

OBS.: Nos quadros de agglutinações: onde se lê Diplococcus simplesmente (na columna Germen), leia-se: "Diplococcus a".

muito raramente, ou não existem no sangue dos animaes doentes os chamados anti corpos de BORDET. Dispensamo-nos de transcrever para aqui essas pesquizas uma vez como foram todas negativas. As vaccinações tambem foram tentadas com esses bacillos. Tomámos muitas amostras dos bacillo com o typo VRYBURG, e preparámos 2 especies de vaccinas: em meios liquidos (caldo, caldo glycerinado, etc.), e em meios solidos com emulsão posterior em sôro physiologico. As culturas eram mortas pelo calor e phenicadas a 0,5 %.

Dosávamos essas vacccinas; as primeiras em c.c. nos coelhos; as segundas pela technica de KOLLE-WRIGHT. Não tentámos a technica de ROBERTSON, por complicada.

Junto damos um quadro explicativo das nossas experiencias. As vaccinas multivalentes, em meios liquidos, eram facilmente obtidas. Bastava semeiar em meios apropriados, differentes amostras de bacillos com o typo de VRYBURG. 48 horas após a estadia na estufa á temperatura de 37°C., matavamos pelo calor os bacillos, juntavamos 0,5% de acido phenico ou não, e dosávamos em pequenos animaes de laboratorio o producto assim obtido. 2 ou 3 c.c. para os pequenos animaes ou 5 a 6 para os maiores, foram as doses fixas.

Preferimos empregar, pelo maior rigor dos methodos de verificação e dosagens, uma vaccina mixta.

Os bacillos eram semeados em agar-agar glycerinado, distribuidos em garrafas de ROUX (4 ou 5 amostras de bacillos com o typo de VRYBURG, por suspensão).

Uma alça de cultura a semear era levada á agua de condensação do meio. Inclinavamos depois convenientemente as garrafas de modo a espalhar a agua de condensação contaminada por toda a superficie do meio. As garrafas eram levadas á estufa, na temperatura de 37°C. 48 horas depois a germinação dos bacillos era muito abundante. Addicionavamos cerca de 50 c.c. de sôro physiologico, esterilizado préviamente, a cada garrafa de ROUX. Auxiliava-se a mistura dos bacillos com uma forte alça de platina. Mixturavamos o conteúdo das differentes garrafas. Aquecia-se essa emulsão, riquissima de bacillos, á temperatura de 60°C. durante 10 minutos Colhia-se após uma pequena porção dessa emulsão bacteriana assim morta, e semeavamos em meios solidos e liquidos (collocando-se na estufa a 37°C), para verificar a morte dos bacillos 48 horas após. Verificada que ficasse a esterilidade da emulsão, juntavamos 0,5% de acido phenico. Só nos faltava dosal-a.

A dosagem era obtida, colhendo-se uma gotta de sangue normal e outra da emulsão cuja dosagem procuravamos, e misturando-as sobre uma lamina convenientemente.

Deseccavamos, fixavamos no alcool a 40° e coravamos pelo GIEMSA. Contavamos 500 hematias e successivamente as bacterias encontradas nos campos microscopicos.

Empregavamos para isso o artificio de restringir o campo visual da occular com um cartão perfurado no centro. Era facil calcular o numero de bacillos por millimetro e por centimetro cubicos. Por outra operação singela calculavamos o quanto deveriamos diluir, em sôro physiologico, a emulsão bacteriana para termos tantos bacillos por centimetro cubico. Addicionavamos, proporcionalmente á quantidade de liquido sommado para a diluição conveniente, a quota de acido phenico. A média pelas dosagens obtidas foi de 270 bilhões de bacillos por c.c. de emulsão primitiva. Baixavamos isso para 2 ou 4 bilhões por c.c, que era a dose a empregar para cada animal.

Nossas vaccinas levavam acido phenico para conservação. Das experiencias que procedemos, deduz-se ser difficil o emprego de boas doses immunizadoras desses preparados. Quando injectavamos 8 ou 4 c.c. e o coelho morria, poder-se-ia ficar na duvida se o que matára o animal, fôram os corpos microbianos, ou as toxinas, ou se o phenol. Nossas vaccinas, porêm, levavam, no maximo 0,5 % de phenol. 8 cc., dose maxima empregada, e 4 c.c., dose media, correspondem a 0,040 e 0,020 respectivamente de phenol. A dose mortal do phenol para coelho é (POUCHET (27)) de 10 a 20 centigrammas. Fica pois, assim afastada, a acção do phenol. Mas por outro lado, parece estabelecido que a dose maxima supportavel não o é ainda da maxima immunização. O animal póde succumbir a uma infecção posterior. Se a dose da vaccina é mais alta, arriscamo-nos a perder o animal, morto pela propria vaccina. Podemos synthetizar as experiencias dizendo: o emprego de 2 c.c. de vaccina typo caldo ou KOLLE-WHRIGHT (dose maxima supportavel pelo coelho, sem o menor perigo), não immuniza o coelho contra uma dose mortal posterior (10 ou 15 dias mais tarde), de bacillos virulentos do typo VRYBURG. O emprego do phenol não póde ser levado em conta pelos motivos já expostos. Em todo caso, no preparo dos sôros especificos para os coelhos, evitámos sempre (como se verá mais adiante) ajuntar phenol. Nos animaes de grande porte isso, todavia, não tem a importancia de que se reveste nos pequenos. Nos ensaios de sôro-vaccinação (bacteria e sôros) não chegamos a resultados decisivos, nem mesmo satisfatorios. A temperatura e peso tanto podem variar nos animaes em experiencias como nos testemunhos. Um unico facto parece estabelecido: é o da necrose no ponto da inoculação bacteriana, muito menor nos coelhos inoculados com bacterias e sôro, que nos de bacterias sómente. A sôro-therapia porêm, nos coelhos foi brilhante. Daremos junto a esse trabalho, um padrão de experiencias emprehendidas. Os sôros empregados foram obtidos hyperimmunizando bois, bezerros e cavallos com os bacillos do typo VRYBURG. Mais adeante falaremos, com pormenores, a respeito desses sôros, publicando os respectivos protocollos.

Deprehende-se dessas experiencias que o sôro preparado contra os bacillos do typo VRYBURG, evita a morte de coelhos, mesmo quando inoculados 18 horas após a dose letal. Já na parte referente á sôro-vacinação, notamos a diminuição sensivel dos phenomenos locaes (zonas de necrose) nos animaes onde após a injecção dos bacillos, inoculamos sôro especifico. Ficou aqui demonstrado, pela sôro therapia, que não apenas conjuntamente senão tambem muitas horas após a inoculação seguramente mortal de bacillos do typo VRYBURG (quando já se estabeleceu a molestia) ainda é possivel ao sôro especifico salvar os animaes.

Com a doença natural dos bovideos o emprego deste sôro deu infelizmente resultados *negativos*. Os animaes vaccinados ou inoculados préviamente com culturas do typo VRYBURG contrahem a molestia tambem, quando mais tarde são reinoculados com material virulento proveniente de animaes com a molestia natural (pus por exemplo). No estudo dos bacillos com o typo dos de VRYBURG tentamos ainda outra serie de pesquizas que procurámos resumir num quadro junto. São as necropsias praticadas e as respectivas sementeiras, O quadro que se vae ler não representa o total das necropsias feitas. Representa, sim, um nucleo escolhido pelas condições optimas em que foram effectuadas as semeaduras. Estas condições foram a da pratica das necropsias immediatamente após a morte dos animaes; as semeaduras em nume-

Ensaios de vaccinação contra os bacillos typo VRYBURG.

Numero de ordem	Animal	Peso	Data da vaccinação	Via	Quantidade e Qualidade da vaccina.	Resultado	Observações
N. 1	Coelho	455 grs.	23 de 2 de 1918.	Sub-cutanea.	4 c.c. cultura mixta caldo simples.	Amanheceu morto no dia 24 de 2 de 1918.	
N. 2	Coelho	550 grs.	23 de 2 de 1918.	Mesma que na N. 1.	2 c.c. da mesma que N. 1.	Amanheceu morto no dia 24 de 2 de 1918.	
N. 3	Coelho	405 grs.	23 de 2 de 1918.	Mesma que na N. 1.	2 c.c. da mesma que a n. 1.	Resistiu.	Foi reinoculado a 5 de 3 de 1918, via intra peritonial, com 2 c.c. de cultura viva bacillo typo VRYBURG. Morreu a 9/3/1918.
N. 4	Coelho	1.255 grs.	23 de 2 de 1918.	Mesma que na N. 1.	8 c.c. da mesma que na N. 1.	Amanheceu morto no dia 24 de 2 de 1918.	
N. 5	Coelho	2.040 grs.	23 de 2 de 1918.	Mesma que na N. 1.	2 c.c. (2 bilhões) de vaccina typo KOLLE-WHRIGHT. Sôro physiologico phenicado.	Resistiu.	Foi inoculado 15 dias mais tarde com 4 c.c., via intra peritonial, de cultura do typo VRYBURG. Morreu 14 dias mais tarde. Perihepatite, peritonite chronica.
N. 6	Coelho	1.870 grs.	23 de 2 de 1918.	Mesma que na N. 1.	2 c.c. cultura em caldo mixto. Multivalente.	Resistiu.	Reinoculado com 3 c.c. de cultura viva bacillo typo VRYBURG 10 dias após. Morreu em 5 dias 3 de 3 de 1918.

rosos meios de culturas (aerobios e anaerobios), a necropsia praticada em logar abrigado e apropriado.

Comprehende-se o porque desses cuidados, communs nas necropsias humanas, nem sempre exequiveis nas dos animaes. Aqui as causas de erro são numerosas já pelas necropsias tardias, já pelas sementeiras insufficientes, já pelas contaminações frequentissimas nos plantios ao ar livre.

E' bem de ver que aqui não incluimos os bezerros ou bois mortos em periodo de hyperimmunização.

E obvio é dizel-o porque. De um destes insulámos, do sangue do coração, um bacillo com os caracteres dos de VRYBURG.

Deduz-se dessas necropsias que dos orgãos, na molestia natural ou experimental, em optimas condições de observação, nunca conseguimos separar bacillos com os caracteres dos de VRYBURG, Já não podemos dizer o mesmo quando nos reportamos ao *pus*.

Quando desse material, no boi vivo, é possivel insular bacillos com os caracteres dos de VRYBURG, após a morte do animal ainda o conseguimos. Os bacillos do typo VRYBURG conservam a vitalidade muito tempo ainda, no pus dos polmões depois de se verificar a morte dos animaes. Ainda uma vez é conveniente chamar attenção para o facto que, (como no animal vivo) se pode repetir após a morte dos bovideos:—pretende-es, ou melhor, parece que é possivel insular, do pus, culturas do bacillo VRYBURG em estado de pureza.

Isso nos aconteceu algumas vezes. No inicio dos nossos trabalhos assim pensámos.

Hoje, após alguma experiencia, interpretamos diversamente os factos. Na realidade os bacillos do typo VRYBURG não existem em estado de pureza no pus dos polmões.

As sementeiras sómente em meios aerobios é que nos podem levar a esse modo de pensar. Nunca encontramos, pelo exame directo, uma unica especie de germens nos esfregaços do pus. E não tem conta o numero desse material que examinámos.

Nos casos onde do pus parece ser possivel ilhar sómente bacillos do typo VRYBURG, as sementeiras em anaerobiose fornecem-nos a prova do contrario (vide adeante).

Ainda uma prova sobre os bacillos do typo VRYBURG deveriamos tentar para encaminhar os estudos. Verificar a sua existencia nos abcessos communs ou artificialmente obtidos. Tentamol-o nós numa serie de experiencias, com resultados que podem, desde já, ser considerados como definitivos sob todos os aspectos.

Procuravamos analysar o pus de abcessos que eram portadores bovideos de saude verificadamente boa. Não será demasia accrescentar que os animaes empregados para essas experiencias, eram estabulados (raça hollandeza), em periodo não correspondente ás epizootias, adultos, e submettidos previamente a longa observação. E' possivel separar nesses casos, de bois normaes, sem peste dos polmões, apenas com abcessos communs, facil e rapidamente removidos, bacillos do typo VRYBURG, isto é, bacillos GRAM negativos, immoveis, não raro com coloração bipolar, com colonias não confluentes, redondas, transparentes em 24 horas no agar-agar, pathogenicos para os coelhos nos quaes produzem a symdrome classica, já descripta, etc. etc.

Dos abcessos artificialmente obtidos, pela terebenthina, não conseguimos insular taes microbios, si bem que bacterioscopicamente, encontrassemos, no pus delles proveniente, germens com os caracteres morphologicos dos bacillos de VRYBURG. A esterilidade das sementeiras atribuimos á terebenthina.

TOXINAS.

Só nos resta falar nas toxinas produzidas pelos bacillos do typo VRYBURG.

A acção toxica das culturas mortas ficou, acreditamos, mais ou menos demonstrada nas inoculações para hyperimmunizações. Os animaes pequenos de laboratorio (coelhos) já se haviam revelado sensiveis ás culturas mortas.

Podemos adeantar que os filtrados em velas CHAMBERLAND, de culturas com um mez de evolução (30 a 40 dias) podem matar coelhos e porcos da India, A evolução do mal faz-se em muitos dias, 12 a 15.

As lesões expressam-se por congestões visceraes (figado, rins, pulmões), derramamento para as serosas, principalmente peritonio, nas inoculações subcutaneas. As injecções intra-venosas e intra-peritonieaes parecem mais severas que as sub-cutaneas. Devemos assignalar, todavia, que se consegue matar, em 12 dias, uma cobaia de 500 grs. de peso, com 3 c.c. de filtrado de culturas, via sub-cutanea.

OUTROS MICROBIOS ENCONTRADOS NO MATERIAL PROVENIENTE DOS ANIMAES ATACADOS PELA PESTE DOS POLMÕES.

Ao lado dos bacillos com os caracteres dos do typo VRYBURG deperam-se, no pus e orgãos dos animaes com a molestia, numerosos outros microbios.

Nossas pesquizas aqui, não visaram apenas os animaes com a molestia experimental senão tambem com a natural, tanto os bovideos e caprinos, como os animaes communs de laboratorio. Nalguns casos tentámos, com esses microbios, reacções de immunidade, e poder pathogenico.

Foi esse capitulo um dos mais penosos do presente trabalho. Pesquizas numerosas, pacientes e prolongadas foram necessarias para o insulamento e estudo comparativo dos germens encontrados na peste dos polmões; além dos bacillos do typo VRYBURG, conseguimos insular cerca de 12 typos differentes de microbios do material virulento dos animaes com a molestia. A frequencia e o insulamento em culturas puras de alguns desses microbios nada deixam a desejar aos microbios do typo VRYBURG.

MICROBIOLOGIA.

Estudaremos com maiores ou menores minucias os seguintes:

1º) DIPLOCOCCUS POLMONIS—variedade *a*.

2º) DIPLOCOCCUS POLMONIS—variedade *b*.

3º) BACILLO typo BIENTOCK.

4º) BACILLO GRAM positivo, pequenissimo.

5º) PASTEURELLA.

6º) BACILLO GRAM positivo, movel, typo *anthracis*

7º) Staphylococcus pyogenes albus, aureus e citreus.

8º) BACILLO DIPHTHEROIDE

9º) STREPTOTRIX POLMONIS.

10º) BACILLO PYOCYANICO.

11º) BACILLO pequeno, GRAM negativo, anaerobio estricto.

12º) STREPTOCOCCUS.

O «STREPTOTRIX POLMONIS», não o descreveremos com pormenores, pois raras vezes é encontrado no pus dos polmões, principalmente após a passagem em coelhos (no pus do bezerro 56, elle foi encontrado).

Elle foi insulado do pús local, de um phlegmão fechado, da parede do ventre de um coelho inoculado com pus infectante.

E' um microbio não pathogenico para os bezerros, que só vive em anaerobiose estricta. O exame directo do pus, revela formas curtas do parasito. São

Ensaios de sôro-therapia.

Numero de ordem	Animal	Qualidade e quantidade das culturas	Via	Quantidade inoculada	Duração da doença experimental	Peso	Resultados	Observações	Dia e hora da inoculação	Sôro cavallo hyper-immunizado	Sôro bezerro hyper-immunizado
N. 1	Coelho	Culturas mixtas Bacillos typo VRYBURG 3 typos.	Subcutanea.	1 c.c. emulsão em sôro physiologico.	Menos de 24 horas Amanheceu morto 29 de 1 de 1918.	545 gr.	Morte.	Isolou-se o bacillo do typo VRYBURG do peritonio.	2 horas da tarde do dia 28 de 1 de 1918.	Não foi injectado.	Não foi injectado.
N. 2	Coelho	Como na do N. 1.	Subcutanea e peritoneal.	1 c.c. emulsão em sôro physiologico.	22 dias de duração. 19 de 2 de 1918.	1.132 gr.	Morte.	——— ———	2 horas da tarde do dia 28 de 1 de 1918.	Como na n. 1.	Como na n. 1.
N. 3	Coelho	Como na N. 1.	Subcutanea e peritoneal.	1 c.c. de emulsão physiologica.	Nada observamos salvo ligeira tristeza do animal.	780 gr.	Alta curado em 26 de 2 de 1918.	Injectou-se 18 horas após 16 c.c. de sôro, via intra-peritoneal.	Como na n. 1.	Foi injectado do cavallo n. 1.	Não foi injectado.
N. 4	Coelho	Como na N. 1.	Sub-cutanea.	Como na N. 1.	Como na N. 3.	562 gr.	Alta curado em 26 de 2 de 1918.	Como na n. 3.	Como na n. 1.	Não foi injectado.	Foi injectado do Bezerro n. 1.
N. 5	Coelho	Culturas mixtas typo VRYBURG: 3 amostras.	Sub-cutanea.	1 c.c. em emulsão physiologica.	Nada observamos salvo ligeira tristeza do animal.	600 gr.	Alta curado 26 de 2 de 1918.	Foi injectado com 10 c.c. no momento e 10 c.c. 24 horas após de sôro. Via intra-peritonial.	2 horas da tarde 28 de 2 de 1918.	Não foi injectado.	Inoculamos Sôro do bezerro n. 1.
N. 6	Coelho	Como na n. 5.	Como no n. 5.	4 c.c. emulsão semelhante a N. 5.	Morreu em menos de 24 horas. Amanheceu morto no dia 15 de 6 de 1918.	1.570 gr.	Morte.	Reinsulou-se o bacillo com os caracteres dos de VRYBURG.	Tarde de 14 de 6 de 1918.	Não foi injectado.	Não foi injectado.
N. 7	Coelho	Como na N. 5.	Como na n. 5.	2 c.c. de emulsão semelhante a do n. 5.	Morte em 5 dias. 19 de 6 de 1918.	500 gr.	Morte.	——— ———	Como na n. 6.	Não foi injectado.	Não foi injectado.

verdadeiros VV, nos quaes uma das pernas se apresenta mais curta.

Nos replantios com culturas puras, em agar-agar, para anaerobios, obtêm-se formas longas (e curtas tambem), apresentando granulações varias.

Vejamos o 1º da lista.

«DIPLOCOCCUS POLMONIS»

variedade a.

Quando estudavamos a peste dos polmões, convencidos da especificidade dos bacillos com o typo VRYBURG, fomos surprehendidos, numerosas vezes, com a esterilidade dos meios de cultura (agar-agar aerobio), após as sementeiras.

Noutras, comtudo, os meios para aerobios, agar-agar, agar-sôro, etc. etc., apresentavam, 8 ou 10 dias após o replantio, numerosas pequenas colonias, puras no primeiro plantio, de um pequeno *Diplococcus,* GRAM negativo, com cerca de 0,5 a 0,8 micron de tamanho.

Este microbio não tem, é facto, a fórma de um verdadeiro «*diplococcus*». E' antes um «*coccus*» em halteres.

Elle é, muita vez, o unico germen que se insula, em aerobiose (agar-agar) do pus dos polmões (placas de PETRI a 37ºC.).

Os meios com glycerina (placas de agar-glycerinado) prestam-se ao exame do microbio. As colonias, aqui, lembram as dos bacillos com o typo dos de «VRYBURG» (vide photographia).

São colonias arredondadas, de contornos nitidos, transparentes, de fino reticulo para desenho interno (10º dia da sementeira).

A transparencia das colonias desse microbio traz seria difficuldade ás microphotographias.

O exame com augmento forte (objectiva 6 6, ocular 4—ZEISS) mostra que as colonias são chatas, fazem corpo com o meio de cultura.

O «*Diplococcus* a» vive bem nos meios para anaerobios, particularmente no caldo, aonde elle vegeta com grande abundancia.

Nas sementeiras em meios anaerobios solidos, elles se caracterizam pela extrema pequenez das colonias.

Em 24 horas turva o caldo (anaerobiose).

Este microbio pode ainda se apresentar em pequenas cadeias, em *coccus* alongados, lembrando bacillos. O polymorphismo é accentuado.

Elle vive muito bem nas culturas com o «Diplococcus» que chamaremos *b,* com os bacillos typo VRYBURG e com o bacillo typo BIENTOCK.

Resiste a 79ºC., durante 10 minutos.

Morre de 86ºC. a 89ºC., durante 10 minutos.

O sôro dos animaes doentes (natural e experimental) não agglutina esse microbio.

Elle não é pathogenico para o bezerro, coelho e porco da India.

DIPLOCOCCUS POLMONIS

variedade b.

Quando semeamos directamente o pus dos polmões, em certos casos, no agar, em tubos de VIGNAL e agar inclinado simples, aerobio, facil é, distinguir no primeiro, no fim de 24 horas a 5 dias, uma verdadeira chusma de minimas colonias, no meio das quaes, vemos, de quando em vez, uma ou outra colonia grande. O agar é fendido pelos gazes.

Todos elles têm aspecto semelhante, uniforme, branco, ás vezes com centros ligeiramente escuros. São colonias do «*Diplococcus b*». O cheiro que se exhala destes tubos é identico ao do pús dos polmões.

O agar simples, inclinado, aerobio, fica esteril.

No inicio dos nossos trabalhos con-

fundimos esse germen com aquelle que ha pouco descrevemos (variedade a).

Explica-se o facto pela relativa facilidade, particularmente nos meios artificiaes de cultura, com que o «*Diplococcus b*» se descora pelo methodo de GRAM.

Estudos comparativos posteriores, particularmente os executados no Instituto de Hygiene de Pelotas (Estado do Rio Grande do Sul), mostraram-nos o engano.

Damos nesse trabalho 2 microphotographias, bem expressivas, das 2 especies de «*Diplococcus*.

O *Diplococcus b* é muito maior que o typo *a*.

Elle tem cerca de 1,5 a 1,8 micron de tamanho, quando bem desenvolvido.

Permanece corado pelo methodo de GRAM.

Si a acção do alcool, nesta technica de micro-tinturaria, é porêm, demorada, elle se nos depara descorado. Esta ultima propriedade é notadamente apreciada quando se trabalha com o microbio vindo dos meios artificiaes para o cultivo do germen.

E' por isso que com certas colorações dos esfregaços de culturas do germen, parece-nos, á primeira vista, tratarmos com 3 microbios (culturas impuras).

A observação cuidadosa mostra porêm, desde logo, o engano. Vemos *Diplococcus*, nos quaes um «*coccus*» está descorado e outro não.

Este aspecto tembem não é raro nos esfregaços do pus dos polmões.

Vemos, por isso, numa mesma cultura, ou no mesmo pus, grupos de *diplococcus* GRAM-positivos e grupos GRAM-negativos.

A acção do alcool, não se podendo fazer sentir por egual num esfregaço de espessura varia, descóra muito aqui, não retira a côr acolá.

Em casos examinados com o fito de pesquizar o *Diplococcus b*, 44 vezes foi elle encontrado.

Eram casos na maioria, da molestia natural (experimental tambem tivemos alguns casos), com toda especie de material virulento (pus, orgãos, carrapatos, etc.).

Elle não foi encontrado em abcessos communs de bovideos sadios, fóra de qualquer influencia provada da molestia.

Algumas vezes o *Dipolcoccus b* existe numa proporção extraordinaria nos esfregaços do material virulento.

Elle dominava, por exemplo, na preparações de pús, do boi IX, do bezerro nº. 66, do bezerro nº. 8, etc. etc.

Elle é extremamente polymorpho.

Como o *Diplococcus a*, não é positivamente um typo acabado de «*coccus*» duplo.

E' antes um «*coccus*» em halteres ou 8, no qual a haste de ligação se apresenta quasi nulla.

A's vezes apresenta-se em franca gemmação, outras como elemento unico, ovoide, espherico, em cadeias, lembrando o estreptococco, com 3 ou 5 elementos, e até, de tal modo afilado, que poderia parecer um curto bacillo GRAM-positivo.

Nalgumas culturas vemos verdadeiras zoogleias de *coccus* e de um *coccus* nasce muita vez um filamento curto, como se fôra um bacillo. Ha fórmas de pavio de vela. Noutros predomina o aspecto bacillifórme puro.

Como se vê, é accentuadissimo o polymorphismo desse microbio.

Retirado de um meio solido elle é immovel; colhido todavia dos meios liquidos (caldo por exemplo), é movel.

Morre á 90ºC. Vive bem nas culturas artificiaes com todos os outros germens dos polmões, particularmente com o Diplocuccus a e bacillo typo VRYBURG.

Não germina (salvo raras excepções, e mesmo assim tardiamente) em agar simples aerobio.

Turva o caldo simples, coberto de fina camada de vaselina liquida, em 24

horas. Aqui pode haver a formação de gazes.

Associado a outros germens, cresce no caldo simples aerobio.

A turvação do caldo accentua-se cada vez mais, e, no fim de 12 ou mais dias, ha a formação de um deposito abundante, arenoso, constituido por 2 zonas: uma *peripherica, branco-pardacenta,* outra central, *negra.* Casos ha aonde estas 2 zonas se misturam e o deposito tem a côr geral pardacenta.

Um fétido caracteristico exhala-se destas culturas.

Lembra o fétido do pus dos polmões. Elle se torna mais forte com o tempo.

Transplantado daqui para meios aerobios e anaerobios, germina nesses, naquelles não.

Sabouraud liquido aerobio: não se desenvolve.

Sabouraud liquido anaerobio: não se desenvolve.

Sabouraud maltosado solido: não se desenvolve.

Leite anaerobio: coagula em 24 horas. Ha immediatamente separação de sôro.

Meio com neutralroth: ha formação de uma verdadeira «poeira» de colonias pequenissimas, escuras, sem orla. Meio descorado e gazes em 24 horas.

Petruschky: azulesce mais nas 24 horas seguintes. Quatro dias após, completo envermelhecimento.

Caldo aerobio: turva em 24 horas, por egual.

Sôro de Loeffler: germina. Colonias escuras no fim de pouco tempo.

Agar simples aerobio, inclinado: não germina.

Agar simples anaerobio, picada: germina com abundancia. Em 24 horas, formação de uma nuvem ao longo da picada. Accentua-se nas 48 horas seguintes.

Batata, aerobio: não ha germinação visivel.

Meio de Endo; aerobio: não ha germinação visivel.

Agar-sôro de boi, aerobio: desenvolvimento muito pequeno. Colonias minimas, translucidas, redondas esparsas (48 horas após o plantio). Polymorphismo accentuado do microbio, neste meio.

Agar-sôro de cavallo; aerobio: como no agar-sôro de boi.

Gelatina: dissolve em 48 horas, em tubo.

Barsiekow glycosado: envermelha-se em 24 horas, fermenta em 48 hs.; não ha gazes. Ligeira coagulação do meio. Em 4 dias, coagulação completa e muitos gazes.

Barsiekow lactosado: ligeiro envermelhecimento em 24 horas. Ha descoramento. Em 4 dias, ha coagulação do meio e gazes.

A's vezes as sementeiras do *Diplococcus b,* no caldo, parecem ficar estereis nas 24 horas seguintes: só 48 horas após é visivel a turvação do meio, que se accentua, com o decorrer dos dias.

Será uma adaptação, ao novo meio, o que retarda a proliferação do microbio?

Quando semeamos o pus dos polmões em numerosos meios de cultura, não é raro verificarmos que a maior parte permanece esteril.

O caldo é, dentre todos, aquelle que sempre se apresenta com germens. E' justamente devido ao *Diplococcus b* e á ausencia de outros microbios aerobios, que obtemos áquelle resultado.

O *Diplococcus b* não atravessa as velas CHAMBERLAND (50—55 de pressão-trompa dagua Adnet).

Elle é agglutinado até 1/80 pelo sôro de animaes doentes.

Os sôros dos convalescentes, mesmo 15 dias depois da cura, ainda podem agglutinal-o a 1/20.

O sôro normal de boi agglutina o *Diplococcus b* a 1/10.

O *Diplococcus polmonis b* é patho-

genico para o porco da India, coelho e bezerro.

Essa é a fundamental differença entre elle e a variedade *a*.

Vejamos como trabalhavamos.

As culturas em caldo anaerobio, do *diplococcus* eram verificadas por um esfregaço simples (methodo de coloração-GRAM), após o que eram replantadas em tubos de agar-agar simples, aerobio, inclinado.

Estes tubos eram levados á estufa.

Injectavamos, então, para logo que se verificava a pureza das sementeiras, o animal em experiencia.

A syndrome obtida nesses animaes, salvo no bezerro, é muito semelhante á causada pelos bacillos typo VRYBURG.

O animal inoculado com culturas desse *Diplococcus* (0,5 cc.), apresenta já, 24 horas após, rubor e tumefacção no local da inoculação (de regra a parede do ventre).

Com o tempo esse estado se aggrava, e, a breve trecho, um verdadeiro polmão se installa.

A duração da molestia varia entre 3 e 15 dias.

O animal fica triste, com o pelo arrepiado e sem comer.

A palpação da parede do ventre (ponto da inoculação), provoca dôr.

Muita vez o polmão ulcera-se, estravasando um pus fetido, liquido, semiliquido ou verdadeiramente pastoso, branco ou côr de salmão (raiado com sangue).

Pode haver necrose da parede do ventre, partindo do ponto da inoculação.

A exploração desse abcesso, mostra ser elle cercado por uma verdadeira bainha fibrosa, resistente, tal qual vemos nos polmões dos bovideos.

O animal morre extremamente magro (vide graphico do coelho nº 2).

O pus do polmão , como acontece com os bovideos, pode solapar grandes extensões e vir fazer saliencia num ponto distante da séde principal.

Haja vista o coelho nº. 19P., cuja inoculação fôra feita na região mediana da barriga, do lado esquerdo.

A necropsia realizada 15 dias (tanto durara a molestia) após a injecção virulenta, mostrou-nos que o pus solapara toda a porção esquerda do ventre, e, respeitando o peritonio, caminhara sobre as aponevroses profundas, vindo fazer hernia na base da cauda e no pescoço.

O coelho pode apresentar os ganglios proximos tumefactos, derramamento para as serosas (peritonio, pleuras e pericardio). Ha muitas vezes uma polyserosite.

Os polmões mostram-nos zonas congestas, e mesmo focos de suppuração disseminados.

Ha casos de peritonite e pleurisia hemorrhagicas, com lesões inflammatorias peri-organicas na cavidade. Congestões para outros orgãos.

Eis o resumo de uma necropsia:

Coelho nº. 503 (inoculado a 17—12—1919), com cultura em caldo anaerobio do *Diplococcus b*, insulado do pus do bezerro nº. 56 (*), e morto a 23—12—1919.

Magreza extrema, tumor azulado na parede do ventre, no ponto da inoculação, fluctuante, ulcerado, fetido.

Edema do resto da parede, para fóra da zona propriamente inflammada.

Pus local fetido, viscoso, côr de salmão. Coração apparentemente são. Pulmões congestos. Rins enormes, turgidos, com superficie de córte vermelha intensa, donde escorria um liquido vermelho escuro.

Não se distinguiam as duas substancias.

Lembrava o aspecto dos rins dalguns casos da fórma natural da molestia de VRYBURG.

Figado turgido, molle, vermelho escuro.

(*) As culturas em agar, dos orgãos e pus desse bezerro, ficaram estereis.

Baço e capsulas supra-renaes sem cousa digna de nota.

Peritonite generalizada.

As sementeiras do pus e rins em aerobiose ficaram estereis. Do coração insulámos germens communs.

Reinsulámos do pus, em anaerobiose, o *Diplococcus b.*

Insula-se o *Diplococcus b* do pus local, dos liquidos organicos e dos orgãos dos animaes em experiencia.

A abundancia do *Diplococcus* no pus dos phlegmões é notavel.

Elle se associa aqui tambem com muitos outros germens, inclusive, alguns com os caracteres das pasteurellas.

De alguns orgãos e liquidos elle é insulado em estado de pureza, lógo no primeiro plantio em caldo anaerobio, permanecendo estereis (como sóe acontecer nos bovideos), as sementeiras em meios aerobios (agar-agar, etc.).

No porco da India a syndrome é, em tudo, semelhante á do coelho, menos na gravidade da molestia experimental. Ella resiste mais que este animal á inoculação do *Diplococcus b.* Mesmo após a formação de um grande polmão e consequente esphacello dos tecidos, o porco da India pode sobreviver.

Do pus local insula-se—associado ou não a germens typo Pasteurella, germen GRAM-positivo, etc., etc., e o *Diplococcus b.*

Ha, porêm, um facto, alem do fétido caracteristico que de suas culturas se exhala, que colloca o *Diplococcus b* acima dos seus associados nas lesões da molestia de VRYBURG: é o poder pathogenico para os bovideos.

Os proprios bacillos typo VRYBURG, não possuem como este *Diplococcus,* em tal qualidade e quantidade.

Os auctores que trabalharam com os bacillos typo VRYBURG sabem que só é possivel obter a morte ou lesões nos bovideos, trabalhando com grandes doses de microbios e culturas de virulencia exaltada pela passagem em coelhos ou porcos da India. Mesmo as culturas recem-insuladas das lesões dos bovideos, são avirulentas para estes animaes, nas melhores condições de experiencia.

Recentemente procurou-se, exaltando a virulencia do germen, provocar os polmões nos bezerros pela inoculação de exudatos peritoniaes de coelhos victimados pelos bacillos typo pasteurella.

Esta technica é bastante imperfeita para aqui ser discutida.

Basta lembrar que, nas lesões dos animaes inoculados com culturas puras de determinados germens, quasi sempre se enxertam outros microbios.

E' preciso não esquecer o facto commum do simples rebaixamento da resistencia dos animaes provocar a invasão e morte do organismo pelos microbios que pullulam antes, saprophyticamente nos tecidos.

O bacillo, que durante muito tempo pareceu ser o agente etiologico da septicemia dos coelhos, pode ser insulado de todos os orgãos deste animal, após a morte, que se verifica em 24 ou 48 horas, após a inoculação de um soluto fraco de acido lactico.

A inoculação de culturas puras do *Diplococcus b,* provoca lesões das quaes é possivel insular outros microbios, inclusive bacillos com os typos PASTEURELLA e VRYBURG.

E' preciso lembrar comtudo, que, muita vez, o exame directo do pus parece revelar uma notavel quantidade de germens GRAM-negativos, com os caracteres dos de VRYBURG, e, todavia, as sementeiras numerosas em meios varios (excepto caldo), agar-agar, batata, SABOURAUD, LOEFFLER, etc, permanecem estereis com respeito áquelles bacillos. E' que o proprio polymorphismo e polychromia do *Diplococcus b* pode-nos levar a tal engano em simples esfregaços.

O *Diplococcus b* dispensa a exaltação da virulencia.

A inoculação de culturas puras, com muitos dias de replantio, provoca nos

bovideos polmões typicos de varias especies e tamanhos: desde os com pus liquido e de volume avantajado até os de volume reduzido e pus espesso.

Tem-se nestes ultimos casos (como nalguns polmões da molestia natural) a impressão de termos sob os dedos, um simples ganglio ligeiramente enfartado, duro e resistente.

Muita vez, desse modo elle permanece durante numerosos dias (1 ou mais mezes). E' uma prova do modo pelo qual os portadores de virus (na molestia natural) podem perpetuar a molestia. Os bezerros assim doentes, têm uma curva thermica expressiva (vide bezerro nº. 21P)., apresentando-se magros, asthenicos, si bem que com appetite regular. O traçado thermico é expressivo. (vide graphico Nº. 2P).

A morte pode ser o epilogo desse estado.

Insula-se do sangue peripherico dos orgãos e do pus local o *Diplococcus b* associado ou não neste ultimo material a outros microbios.

A's vezes, numa serie de tubos semeados com material colhido dos tecidos, os tubos com meios de cultura solidos (agar-agar, etc.) ficam estereis, só germinando os plantios (em caldo) em meios liquidos.

No inicio da formação dos polmões pela inoculação do *Diplococucs b* só é possivel reinsular o mesmo *diplococcus*.

Pouco a pouco, com a evolução da lesão, outros anaerobios apparecem, enxertando-se na lesão. São anaerobios e aerobios de typos já conhecidos.

A necropsia dos bovideos mortos pelo *Diplococcus polmonis b*, revela:

Animal muito magro. Derramamento citrino para o pericardio. Baço manchado de amarello em toda a superficie. Figado idem. Rins volumosos, com a superficie do córte vermelha intensa, mal permittindo distinguir as duas substancias. Os vestigios dos polmões cutaneos são palpaveis.

Insulou-se o *Diplococcus polmonis b*, dos orgãos.

BACILLO TYPO BIENSTOCK.

Entre os germens que nos esfregaços do pus dos «polmões» frequentemente se deparam, salientam-se de alguma maneira, uns bacillos esporulados, em raqueta.

Durante muito tempo lutámos para insular o microbio do alluvião que empanturra quasi sempre aquelle pus.

Em verdade não julgamos que houvesse qualquer relação entre este microbio e a causa etiologica da molestia. O plano de estudo porêm, traçado no inicio deste trabalho obrigava-nos a estudar mais profundamente o assumpto.

E' um germen GRAM-negativo, avirulento para o porco da India, coelho e bovideos.

Resiste a 79ºC., durante 10 minutos.

Morre a 86-89ºC., durante 10 minutos.

Este poder de resistencia é um optimo meio de insulal-o por entre os demais germens dos polmões.

Semeado em caldo anaerobio germina com facilidade a 37ºC., na estufa, turvando o caldo, e dando filamentos longos que mais parecem mycelios.

Não germina em aerobiose.

No caldo, em anaerobiose, forma-se no fim de pouco tempo, um deposito arenoso, rico, que se completa em 27 dias, deixando o liquido sobrenadante completamente transparente.

Encontra-se neste deposito uma quantidade notavel de esporos com fórma e tamanho varios. Ha esporos em fórma de fuso, em raqueta e esphericos.

A germinação faz-se por um ou ambos os polos do esporo.

Alguns aspectos destes, em culturas ou nos esfregaços do pus, poderiam parecer tratar-se do bacillo de NICOLAIER.

A experimentação, como vimos, elimina decisivamente esta duvida.

O bacillo é longo e de extremidades arredondadas.

BACILLO GRAM POSITIVO, PEQUENISSIMO.

Insula-se, mais raramente, dos polmões, um pequenissimo bacillo GRAM-positivo, de culturas em agar-agar, semelhante ao *Diplococcus polmonis*.

Com 15 dias de evolução no agar-agar glycerinado lembram gottas minimas de orvalho espargidas sobre o meio de cultura. O crescimento desse bacillo é muito lento. Elle foi obtido, em cultura pura, uma unica vez, de pus dos polmões. Verificamos, mais tarde, que nos abcessos vulgares de bovideos sadios encontra-se o mesmo microbio.

MICROBIO TYPO PASTEURELLA (CLASSICO).

Seguimos aqui a designação de TOM e TREVISAN quando cuidaram insular na pathologia, um grande grupo de germens, muitos dos quaes, hoje, de acção pathogenica duvidosa. Este grupo, foi pela primeira vez estabelecido por HUEPPE sob a denominação de «septicemias hemorrhagicas». O germen que insulámos tem todos os caracteres desse grupo: GRAM-negativo, immovel, vacuolizado, maior que os bacillos typo VYRBURG, etc. etc.

Foi insulado (em hemocultura nº. 15), uma vez, do sangue de um boi, com a molestia chronica, modalidade cutanea. Lembrava, no seu aspecto morphologico, o bacillo de YERSIN. Elle tambem póde ser retirado dos ganglios enfartados e do pus de abcessos fechados (polmões). A acção sobre os bezerros e coelhos parece ser nulla. O sangue, contendo esse microbio, nada produz quando inoculado na veia e sob a pelle de bois e coelhos.

BACILLO GRAM POSITIVO, TYPO ANTHRACIS.

Do boi que nos forneceu a pasteurella, insulámos tambem do sangue, um bacillo GRAM-positivo, com as extremidades cortadas a pique, ora ilhado, ora em cadeias numerosas, *muito movel*.

Foi essa, comtudo, a unica vez gue o conseguimos obter do sangue provindo de animaes com a peste dos polmões.

Turva completamente o caldo em 24 horas, formando espessa pellicula na surpeficie do meio, no fim de pouco tempo (2 a 4 dias), espesso deposito floconoso. Este bacillo germina com a mesma facilidade nos outros meios de cultura communs em laboratorio, particularmente na batata onde fórma densa camada esbranquiçada, e denso deposito no fundo do tubo.

No agar-agar, as colonias lembram as do carbunculo hematico (12 horas).

Do pus dos polmões insula-se com alguma frequencia esse bacillo. Das lesões experimentaes nos coelhos tambem é facil o seu insulamento. Torna-se nalguns casos um verdadeiro impecilho para o insulamento de outros microbios.

Mal se esboçam as colonias de outros germens, já as desse cobrem completamente as placas de PETRI. Encontramos de uma feita, no rim de boi, região dos corpusculos de MALPIGHI, bacillos com caracteres morphologicos identicos a esse. O animal havia tido uma longa agonia (forma chronica).

Achamos aqui explicação plausivel para o facto.

ESTAPHYLOCOCCO E ESTREPTOCOCCO.

Insulamos estes primeiros coccus na sua gamma de côres: *albus*, *aureus* e *citreus*.

Os estreptococcos, com menor frequencia que os primeiros do grupo, pó-

actual dos nossos conhecimentos, a descripção do microbio.

Basta lembrar que na peste aviaria, por exemplo, o microbio atravessa o ULTRA FILTRO DE BECHOLD Nº. 5. Elle deve ter pois, 2,5 a 2,4 millionesimos de millimetro de tamanho (29).

Qual será o apparelho moderno de physica que revele ao olho humano uma tal dimensão?

E' preciso lembrar que aquelle filtro retem a hemoglobina. Ha ainda mais.

Diluindo-se o material virulento a 1/100 milhões ainda se consegue infectar animaes sadios. Qual é presentemente a reacção chimica que chega a esse extremo de sensibilidade? O assumpto, como se vê, longo de ser um deposito para esconder ignorancia, é cheio de ensinamentos e digno da melhor attenção. Dizer- «não sei»—quando se fez tudo que é possivel, na sciencia, para saber, não é desdouro para alguem.

Que importa a fórma do microbio?.

Estivessem os medicos fiados no bacillo icteroide, no do hog-cholera, nos bacillos de HAVA, de THOINOT e CALMETTE, nos coccus e bacillos de ARLOING, no Micrococcus de RIVOLTA etc.—a serie é interminavel, e a microbiologia e as sciencias medicas, nesses pontos, estariam como ha 40 annos.

Foi essa directriz, firmada por NICOLLE, CONOR, COMTE et CONSEIL, que precisamente orientou de modo decisivo, definitivo, as pesquizas sobre o typho exanthematico.

Foi ella ainda que, estabelecida por UHLENHUTH, HUEBNER e XYLANDER na peste dos porcos, levou MARQUES LISBOA aos resultados brilhantes, therapeuticos e prophylacticos, naquella molestia.

Foi ainda aquella mesma orientação que levou LOEFFLER a estabelecer o methodo de tratamento da febre aphtosa, que nas mãos de MARQUES LISBOA tão bons serviços já prestou e ainda ha de prestar á nossa pecuaria.

Esperasse a humanidade as vaccinas preparadas com os bacillos de HAVA, coccus de RIVOLTA, etc. e teria de juntar mais algumas desilusões ás muitas de seu passivo. Foi por assim esperar, fiados no bacillo de PFEIFFER e seus sequaes, que as Secções de Saude do mundo inteiro tiveram de confessar a impotencia da medicina deante da influenza pandemica .

Que importa os contornos precisos do microbio, seu aspecto definido si nas mãos dos experimentadores, mesmo sem esse conhecimento, obtem-se para a humanidade o melhor dos resultados? Não foi decisivo para o tratamento da tuberculose o descobrimento de KOCH. Ahi estão, desafiando a argucia dos estudiosos, os bacillos de HANSEN.

A sôrotherapia anti-pneumococcica é de nossos dias, e, todavia, o pneumococcus data do inicio da era pasteuriana.

Não é muito melhor conhecer a biologia de um microbio, suas propriedades geraes, que é o que nos informa o grupo dos filtraveis?

Não se conhece a fórma do microbio da peste bovina; ha um tratamento e prophylaxia decisivos para o mal. Não se conhece o microbio da raiva; a vaccina de PASTEUR é, ainda hoje, um dos maiores feitos daquelle grande espirito e a humanidade agradece reverente ao seu admiravel bemfeitor.

Não se conhecia a fórma do virus da febre amarella (1). Sabia-se-o um filtravel.

Conhecia-se a sua biologia.

Só com isso OSWALDO CRUZ redimiu grande parte no Brazil.

Não se conhecia a fórma do microbio do typho exanthematico, e já NICOLLE havia indicado a prophylaxia ra-

---

(1) Noguchi attribue a febre amarella á *Leptospira icteroide.*

dem ser colhidos nos animaes com a peste dos polmões.

E' mesmo muito para admirar que não se insule sempre, dos abcessos, do sangue ou dos orgãos, os germens desse grupo. São microbios por excellencia pyogenicos, e o que mais é, em dadas circumstancias, de grande poder pathogenico para os bovideos. Não nos deteremos no estudo desses germens por demais conhecidos.

BACILLO DIPHTHEROIDE.

E' de uma constancia, digna de registro, a presença desse bacillo nas sementeiras anaerobias de pus proveniente dos polmões.

Elle é anaerobio estricto. Damos uma photographia microscopica junto a esse trabalho, de um esfregaço de cultura pura desse germen. Nella vemos granulações varias no corpo do bacillo. A principio suppuzemos tratar-se de um microsiphonado. Exames cuidadosos posteriores afastaram, porêm, essa suspeita.

Incluimol-o no grupo dos bacillos diphteroides. E' um bacillo que apresenta-se, ás vezes, em grumos ou feixes. Nos esfregaços vêm-se filamentos longos ou simples bacillos, de extremidades arredondadas. E' exigente para os meios de cultura. Pede no minimo camada bem alta de agar-agar, ou melhor de caldo simples (o caldo—sôro de cavallo é o meio preferido) ou agar de LIGNIERES.

O caldo deve ser recoberto por uma camada de paraffina liquida, previamente esterilizada. Mesmo assim, desenvolve-se aqui o microbio no fundo do tubo aonde fórma deposito floconoso. A camada superficial do caldo fica transparente (10 ou 11 dias de evolução). No agar para anaerobios desenvolve-se bem, dando colonias irregulares, pequenas com centros escuros. Não é pathogenico para os coelhos e bezerros.

BACILLO PYOCYANICO.

Não descreveremos esse bacillo já bastante conhecido.

BACILLO GRAM NEGATIVO, PEQUENO.

Do pus dos polmões insulamos ainda um pequeno bacillo, GRAM negativo distinguindo-se dos bacillos do typo VRYBURG pela necessidade absoluta de meios anaerobios para germinar.

GRUPO DOS INVISIVEIS.

MICROBIOS FILTRAVEIS.

Ao lado dos microbios visiveis, foi-nos possivel evidenciar no material virulento, a presença de um «virus filtravel».

Em que pese aos que julgam esse grupo um lugar commun, acreditamos ser a determinação dessa especie de agente morbido um passo seguro para as resoluções sem tropeços, decisivas, therapeuticas e prophylacticas.

E o foi ainda uma vez no nosso caso.

Esta questão aliás, de «virus filtravel» não é tão para desprezar como superficialmente póde parecer. Nella encontramos talvez, condensadas grandes questões de biologia geral. Lembramos, em 1º lugar que, uma vez provada a filtrabilidade do germen, fica, *ipso-facto*, excluida a maioria quasi absoluta dos microbios até hoje descriptos.

Já não falamos nas propriedades geraes dos germens filtraveis, que para logo, com uma serie inteira de consequencias beneficas, podem nos encaminhar a pelo menos, processos prophylacticos seguros.

Parece-nos excessivo porêm, que se queira exigir, de quem attribue a uma molestia a etiologia de um virus filtravel, de um virus invisivel, no estado

cional da molestia pela destruição dos piolhos, hospedeiros intermediarios do microbio. A vaccina de JENNER era secular quando appareceu o trabalho de ARAGÃO e PROWAZEK.

Eis ahi porque, tendo afastado paulatinamente, pela força das experiencias emprehendidas, os germens visiveis encontrados nos animaes com a peste dos polmões, procuramos ver se não estaria entre os virus filtraveis, o agente etiologico da molestia.

E' preciso assignalar que não nos limitámos ao papel de concluir pela etiologia de virus filtravel.

Uma vez provada a filtrabilidade do agente infectuoso, afastados como para logo ficavam os microbios communs, e, de accordo ainda com as modernas pesquizas de NOGUCHI, FLEXNER, LEVADITI, RIKKETZ etc., tentámos outros caminhos. As granulações espirocheticas, os corpusculos globoides, os granulos de RIKKETZ, etc, não foram encontrados.

A technica para as filtrações foi a seguinte: Usavamos velas CHAMBERLAND e BERKEFELD, previamente verificadas, já pela prova da agua, já pela de passagem de outros microbios conhecidos. As velas e vidros eram esterilizados á temperatura de 120 °C. durante 20 minutos.

Para o vacuo serviamo-nos de um apparelho americano de pressão e aspiração ou da simples trompa de agua. A regra era, quando empregavamos a trompa d'agua, collocar entre o tubo aspirador da trompa e o vidro com o material filtrado, um tubo de segurança. O material virulento era filtrado no mesmo dia da colheita. Diluiamos, previamente, em sôro physiologico a 8,5 o/oo, o material a filtrar. Após a diluição, inoculavamos um animal sadio para verificação do poder pathogenico da diluição, si antes já não o houvessemos provado em outras inoculações.

Após a filtração semeavamos o filtrado em meios varios (inclusive para anaerobios). Empregámos correntemente o meio de NOGUCHI. As difficuldades do manejo desse meio, tornam não definitivas as conclusões negativas a que chegámos. Nas experiencias no sentido de provar a existencia de «virus filtravel» tivemos que nos prender a certo rigor de determinismo, para evitar futuras discussões. E' o caso, que, suppondo infectado o terreno aonde trabalhavamos, resolvemos, preparar todo o material da filtração e fazer as experiencias, num terreno immune, a cerca de 3 kilometros do laboratorio.

O liquido filtrado, após as sementeiras para a contra-prova da esterilidade, era levado numa conducção rapida até o local da experiencia. As provas foram ainda assim decisivas.

A filtração era feita com baixa pressão e o mais rapida possivel. A quantidade de filtrado inoculado variou entre 20 e 40 c.c. Empregavamos via mixta: intra-venosa e sub-cutanea (o que importava, no caso era provar a virulencia do material).

Não é fóra de mão reaffirmar, que os animaes no laboratorio para as experiencias dessa, como de qualquer outra natureza, ficavam estabulados durante algum tempo, em observação. Após as inoculações permaneciam nas cocheiras até a evolução final. Havia pois toda possibilidade de uma desinfecção em regra, depois de cada experiencia. O perigo do contagio, se existia, era minimo.

Um dos resultados positivos que obtivemos com virus filtravel foi com o bezerro N°. 39. Junto damos um graphico expressivo.

O animal vinha sendo observado a tempos, com respeito á temperatura. Inoculado no dia 15 de Janeiro, apresentou poucos dias após—dia 18—uma forte reacção thermica, chegando a temperatura a 41 °C

Teve diarrhéa, que se prolongou por muito tempo— fétida, escura, intensa.

Foram os unicos symptomas apresentados. Houve um periodo de incubação, um fastigio da febre (48 horas), e um declinio lento. O animal emmagreceu, sobrevivendo, porém, á inoculação. Foi-lhe concedida alta após alguns mezes de observação diaria. Houve, como se vê, um caso benigno, puro, da modalidade intestinal. Identicos resultados obtivemos inoculando pus, sem filtrar, em animaes sadios. São factos que encontram explicação talvez, na questão do coefficiente individual. No graphico do bezerro nº. 39, vemos completando o quadro, após a pyrexia, umas irregularidades da curva thermica muito semelhantes ás da doença natural.

O bezerro Nº. 58, por outro lado, exemplo semelhante nos offerece. Foi inoculado com filtrado em velas BERKEFELD da emulsão, em sôro physiologico a 8,5 o/oo, do pus do bezerro nº. 56 (molestia natural, fórma chronica, modalidade cutanea). A via foi mixta: intra-venosa e sub-cutanea, 10 c.c. pela primeira e 20 c.c. pela segunda. Após um periodo de incubação de 10 dias, apresentou uma pyrexia typica (41 ºC.) e persistente, e, o que mais é, um graphico com as oscillações expressivas, como que dantes não se vira. Facil é comparar-se esse quadro thermico com outro de um boi normal (graphico boi nº. 20).

Tivemos aqui ainda um caso benigno e puro de peste dos polmões (fórma chronica).

O mesmo diremos do graphico 10. O Nº. 53 é bastante interessante.

Elle é digno de attenção. Durante cerca de 16 dias annotámos a temperatura do animal. Nunca observámos registro superior a 40 ºC. Inoculamol-o com filtrado, em velas BERKEFELD, de triturado, em sôro physiologico a 8,5 o/oo, das viceras de bezerro nº. 56 (molestia natural, fórma chronica, modalidade cutanea) no dia 19, pela tarde. No dia 22 (3 dias após) a temperatura começou a subir, passando de 40 ºC. Dahi por deante vê-se sempre temperatura acima de 40ºC. e mesmo 41ºC. Morreu, com um mez e 4 dias (34 dias) de molestia, num estado extremo de magreza.

Foi um caso puro de peste dos polmões, fórma chronica, modalidade toxica.

Uma outra, sequente a essa, foi a observação do bezerro nº. 59. Este bezerro foi inoculado com filtrado, em velas BERKFELD (via sub-cutanea) da emulsão em sôro physiologico, de triturado de carrapatos *(Boophilus microplus)* infectados. Para melhor comprehensão do que affirmamos damos junto ao quadro thermico do boi infectado o do boi nº 32, sadio, normal.

Após periodo de incubação regular apresentou, alem do inchaço local, uma pyrexia notavel (cerca de 42ºC).

Vinte e poucos dias após appareceram os polmões typicos, pequenos (vide photographia nº. 6). Era mais um passo. Este animal sobreviveu.

Os bezerros 10 e 11 são todavia, exemplos de fórmas chronicas graves, modalidade cutanea, da molestia experimental, pela inoculação dos filtrados, em velas BERKEFELD, de pus e sangue de animaes com a molestia natural.

Estas experiencias foram feitas em animaes de particulares, em campo affastado de laboratorio (ao qual nos referimos paginas atraz), fóra, portanto, de qualquer causa de erro devida a contaminação.

As photographias nºs. 7, 8 e 9 que junto fornecemos, são por demais expressivas para qualquer esclarecimento.

Um desses animaes serviu, mais tarde, para ensaios de sôro preparado contra os bacillos do typo VRYBURG. Ambos morreram no fim de algum tempo.

Dos polmões typicos, apresentados, não insulamos os bacillos do typo VRYBURG.

As sementeiras abundantes, em quasi todos os meios de laboratorio, foram negativas para aquelles bacillos. Num delles, os polmões conservaram-se até a morte; noutro desappareceram pouco tempo após a ulceração,

Tivemos casos de inoculação de filtrados com resultado negativo, principalmente dos em velas CHAMBERLAND. Seria aliás muita pretenção da nossa parte desejar num assumpto de tamanhas difficuldades 100 % de resultados positivos.

Attribuimos, esses insuccessos como todo mundo que tem trabalhado no assumpto, ao poder de retenção de certas velas, e á differença nas diluições dos liquidos a filtrar.

Os casos que ahi ficam, porém, são tão expressivos na sua simples relação, tão concludentes nos seus resultados, que nos dispensamos de qualquer commentario.

Tomámos ainda outro caminho para chegar a uma tal conclusão. Procurámos affastar os microbios visiveis, por um outro processo, de não menor efficiencia. Veremos mais adeante, que o pus é um dos mais constantes reservatorios de virus. Verificada a virulencia delle, em previas inocculações, escolhiamos, com os melhores cuidados de technica, uma pequena porção que era immediatamente espalhada em placas de PETRI esterilizadas.

O pus deveria ser espalhado em camadas bem finas no fundo das placas.

Estas eram levadas á estufa na temperatura de 37ºC. Deseccavamos completamente o material (48 horas bastavam quasi sempre para tanto).

Num gral, esterilizado com antecedencia, era collocado o material assim deseccado e reduzido a pó finissimo. Este pó era conservado na temperatura do laboratorio num simples tubo de ensaio previamente esterilizado.

De quando em vez, semeavamos o pó assim conservado, em variados meios de laboratorio, para verificar a esterilidade no que respeita a germens visiveis.

Cerca de 17 dias após o preparo desse pó as sementeiras se mostraram estereis (aerobios como anaerobios). Iamos verificar tambem, além da presença de virus filtravel, sua resistencia ao deseccamento.

E' sabido que, si o virus da vaccina ou da febre aphtosa são muito sensiveis ao deseccamento, o do epithelioma contagioso das aves, por exemplo, resiste com vantagem durante largo tempo.

Diluimos cerca de 2 grammas do pó em cerca de 20 c.c. do sôro physiologico esterilizado, e inoculamos:

a) 1 bezerro (Vide graphico nº. 55) 5 c.c., via subcutanea.

(nº. 602) 1 coelho, 2 c.c. via subcutanea.

(n. 603) 1 coelho, 5 c.c., via intraperitoneal.

Semeamos a emulsão em:

1 tubo de caldo.

1 tubo de caldo—sôro coagulado.

2 tubos de agar-agar glycerinado.

1 tubo de agar para anaerobios.

Os 2 coelhos nada apresentaram. As sementeiras permaneceram estereis na estufa á temperatura de 37 ºC. Já não podemos dizer o mesmo do bezerro Nº. 55a.

O graphico desse bezerro é digno de registro.

Elle demonstra que a pyrexia não dependeu da inoculação de corpos microbianos mortos ou de toxinas por acaso contidas na quantidade minima de emulsão inoculada. Entre a inoculação e o inicio da reacção febril mediou um periodo de incubação de 48 horas. Não seria de todo descabido elevar, no caso, para 5 o numero dos dias desse periodo. Foi então, foi só então, que o bezerro manifestou a elevada temperatura de 41ºC. e 2 decimos. Esta hyperthermia durou 5 dias, findo os quaes, como é a regra na molestia, houve uma hypothermia (cahindo a temperatura a 38º 7 C.) com as oscillações posteriores. Não seria preci-

so, acreditamos, invocar esse periodo de incubação (que nem sempre exclue a acção de uma toxina) para explicar a acção de toxinas. Difficilmente essas substancias resistiriam ás condições de ar, luz e temperatura por tão largo espaço de tempo.

CLINICA.

Não será preciso aqui insistir naquillo que é da consciencia de todos; isto é, que as divisões clinicas não aspiram apenas synthetizar, num dado momento, aspectos conhecidos de certa molestia.

Casos ha, é verdade, nos quaes as divisões e subdivisões clinicas são subtilezas sem maior merito. Outros, comtudo, em que o conhecimento das fórmas clinicas não é apenas indispensavel senão, tambem imprescindivel, imperioso, já para o tratamento, já para a prophylaxia da molestia.

Ahi estão, para demonstrar a nossa affirmativa, a peste e a diphteria humanas.

Foi justamente esse o papel brilhante e admiravel de TROUSSEAU e LAENNEC, na clinica humana. Do intrincado dos symptomas morbidos erigiram quadros clinicos autonomos, harmonicos, logicos, onde só faltava o microbio, os quaes os descobrimentos de PASTEUR e seus continuadores tão brilhantemente comfirmaram.

Vimos não ha muito os trabalhos de UHLENHUTH e seus collaboradores darem ás fórmas clinicas da Peste dos porcos (para não sahir da Veterinaria) uma interpretação racional, facilitando sobremaneira seu tratamento pela prophylaxia exacta da molestia.

E' nossa opinião que, mais do que em qualquer outra, decorre do melhor conhecimento dos aspectos clinicos da peste dos polmões uma prophylaxia e um tratamento efficazes dessa terrivel molestia.

Os aspectos clinicos que vamos apresentar poderão, sem duvida, ser reformados, com melhor juizo e maior pratica. São, porém, actualmente, a resultante de 3 annos de observações e experiencias, bastantes numerosas, imperfeitas é certo, mas intentadas com bôa fé.

O que nos levou principalmente a resolvermos estudar as fórmas clinicas da peste dos polmões foi o que presenciamos na ultima e desoladora epizootia dos sertões mineiros. A diversidade dos aspectos clinicos, atravez das informações incompletas e quasi sempre imprecisas dos fazendeiros, faziam suppor que uma legião de molestias novas havia desabado sobre os nossos campos.

A peste dos polmões apresenta-se sob duas fórmas clinicas perfeitamente distinctas:

a) Fórma aguda.
b) Fórmas chronicas.

Naturalmente ha fórmas de transição e sub-agudas, como experimentalmente verificámos.

As fórmas agudas são sempre ou quasi sempre puras.

As fórmas chronicas dichotomizam-se em dous grupos bem distinctos:

d) Benignas.
e) Graves.

Cada um desses grupos póde ainda ser considerado conforme se apresente puro ou associado.

As experiencias nos mostraram a razão de ser dessa subdivisão.

Casos ha, pela inoculação de material virulento, filtrado ou não, onde além de uma hyperthermia ou emmagrecimento, nada mais é possivel apurar.

São as fórmas benignas puras. Outros, onde a inoculação de material virulento produz um ou dois polmões, que em breve desapparecem sem deixar resíduos (com ou sem hyperthermia).

São as fórmas benignas associadas,

O mesmo poderemos dizer respeito ás fórmas graves.

As fórmas graves associadas trichotomizam-se nas seguintes modalidades:

f) Cutanea.

g) Intestinal.

h) Toxica.

Finalmente i) fórmas *anomalas*.

A primeira é a «Peste dos Polmões» propriamente dita.

A segunda, tem diversos nomes conforme a localidade: «Curso», «Curso preto», «Pneumo-enterite», «Diarrhea dos bezerros». Este ultimo justifica-se.

A modalidade intestinal assenta-se de preferencia nos bezerros.

Não queremos com isso dizer que todos os «cursos» sejam manifestações da peste dos polmões. O que não resta, porêm, a menor duvida é que a diarrhea quando não é o unico, é um dos symptomas mais frequentes da molestia.

A modalidade toxica é das mais interessantes dessa molestia.

Ella tem sido confundida com a propria tuberculose bovina, bacillar.

Ella é conhecida, em muitas localidades, sob a denominação de «Peste de Seccar».

Uma vez por todas fique bem assignalado, antes de entrarmos em maiores pormenores, que a molestia, sob qualquer das suas fórmas, (demonstram-no numerosas photographias do nosso trabalho) não é apenas um mal dos bezerros como se poderia suppor pela transcripção errada do nosso trabalho em algumas revistas inglezas. A molestia é dos bovideos em geral e mais raramente dos caprinos.(*) A supposição de que ella era uma molestia exclusiva dos bezerroos, modificamol-a nós.

a) Fórma aguda.

Na epizootia de 1919 todos os creadores se queixavam de que não apenas com os «polmões» morriam as rezes. As mortes repentinas em 24, ou 48 horas eram frequentes. Salvo uma ligeira tristeza ou falta de fome, nada mais era possivel divizar anteriormente no animal. Assim morreram numerosos bois, sem que os creadores atinassem com o mal. Em Janeiro de 1919 verificámos experimentalmente este aspecto da molestia. Inoculando uma bezerra (5b) com pus de outra que apresentava a fórma chronica, modalidade cutanea, matamo-la em 48 horas com lesões de septicemia, e sem «polmões».

Não é só da fórma chronica, cutanea, que se póde chegar á forma aguda. Partindo de uma fórma toxica tambem é possivel obter essa violencia do mal (vide bezerro nº. 67). Isso explica-se pela resistencia individual (34, 35 e 36) e vem explicar, por outro lado, como na epizootia de 1907, ao lado de polmões propriamente ditos, saltearam os rebanhos fórmas de morte subita, inexplicaveis (picada de cobra, herva brava etc., dos fazendeiros). Explica ainda, mórmente entre os bezerros, onde os «polmões» são enzooticos (os bezerros são verdadeiros reservatorios de virus), como fóra de qualquer surto epizootico, é possivel sem qualquer influencia perfeitamente evidente, ver morrer subitamente animaes apparentemente sadios. A répia fulminante do mal desnorteia o espirito rustico do caipira. Dahi as explicações, interpretações e therapeuticas abstrusas, para a doença desconhecida que lhe arrebata os rebanhos.

O periodo de incubação na fórma aguda, como demonstra a experimentação, é muito curto. Algumas horas após a inoculação infectante, já a temperatura accusa uma oscillação apreciavel. E' isto, aliás, que não permitte prodomos á molestia aguda.

Após elevação de 1 ou 2 graus, baixa em queda vertiginosa, até a morte.

Ha falta de appetite e tristeza.

Na fórma aguda, venha donde vier o virus, jamais ha polmões.

(*) E até os veados.

Instalada a doença, póde haver diarrhea, de aspecto vario.

A acção do virus parece violentissima. Ha verdadeira sideração do organismo.

A temperatura, salvo a hyperthermia prenunciadora tende mais para baixar que para subir. Estas oscillações, para menos, de 1, 2, 3, e quasi 4 graus são vistas na fórma aguda (boi nº. 62). Ellas são encontradas nas fórmas chronicas proximas da morte. O tempo de duração da fórma aguda varia de 48 a 72 horas (verificação experimental) decorridas do momento da inoculação infectuosa. Entre essas fórmas de tamanha rapidez, pela extrema virulencia do germen ou pelas condições individuaes indeterminadas, e as fórmas propriamente chronicas, ha outras, intermediarias, e sub-agudas, com symptomas semelhantes aos da aguda, com duração oscillante entre 6 e 7 dias (observação dos bois nos. 16a e 2a).

b) Fórmas chronicas.

d) Benignas.

São verdadeiras fórmas abortadas da molestia. O periodo de incubação das fórmas chronicas benignas ou não é quasi tão breve como das fórmas agudas.

Elle varia de 21 a 72 horas. Tomámos aqui como lá para ponto de reparo a curva thermica. A thermometria, quando feita com cuidado e determinismo rigoroso, é um methodo de pesquizas e verificações esplendido. Já o conheciamos da clinica humana. Aqui o encontrámos, com os mesmos precalços mas tambem com as suas enegualaveis vantagens, na Veterinaria. Quando todos os symptomas objectivos falham, já a thermometria expressa a invasão do organismo pelo microbio.

As fórmas benignas ou abortadas da molestia podem se apresentar puras, sem associação, e nesse caso, só é possivel notar uma pyrexia, em breve desapparecida, acompanhada ou não de uma ligeira diarrhéa.

Tivemos disso exemplo, entre outros, nos resultados das inoculações dos filtrados em velas BERKEFELD. De outra feita a propria inoculação do pús virulento, em natureza, ou diluido, produz uma molestia attenuada e espontaneamente curavel no decorrer dos dias. (bezerro nº. 13b). Não é obrigatorio o apparecimento dos polmões.

Nas fórmas benignas—associadas — apparecem manifestações cutaneas, intestinaes mais assignaladas, etc. Com o filtrado de carrapatos obtivemos um desses typos, onde a propria febre foi já notavel, os polmões apresentaram-se typicos, houve diarrhea e emmagrecimento ligeiro. Tudo isso, porêm, desappareceu, a breve trecho, sem deixar vestigios. Vemos nos campos bezerros e bois com um ou outro polmão, mas com aspecto geral relativamente bom, e que representam essa fórma da molestia. A interpretação destes factos encontra esteio nos dados geraes das molestias infectuosas; na penetração de uma pequena porção de virus; na fraca virulencia desse; na forte resistencia individual.

São estes doentes que, apparentemente sadios, vivendo entre os verdadeiramente bons, constituem o deposito permanente do microbio, donde se espraia, todos os annos, a maré das epizootias.

e) Fórmas chronicas graves.

Tambem nessas fórmas vemos casos puros e casos associados.

Os mais communs são os associados. Os casos puros seriam, por exemplo, como no bezerro Nº. 53, que de facto são raros.

Começaremos o estudo das fórmas chronicas graves pela modalidade cutanea.

f) Modalidade cutanea.

E' sem a menor duvida, uma modalidade da molestia com associação microbiana.

A modalidade cutanea da peste dos polmões inicia-se por uma tristeza do bovideo, principalmente si bezerro ou garrote. O animal affasta-se do rebanho, e, rejeitando a alimentação ou mal comendo, permanece insulado e triste.

Dahi a pouco tempo começaram a surgir, pelo corpo inteiro do animal, pequenissimas saliencias, duras, resistentes, que, uma vez abertas, mostram a conformação interna perfeita dos polmões (vide adeante). O bezerro fica cheio de CAROÇOS ou PIPOCAS, no dizer do nosso caipira.

A evolução desses phlegmões é continua, attingindo grandes dimensões.

Com essa evolução caminha tambem o depauperamento do animal, com ou sem diarrhea, até a cachexia e morte.

E' a mais commum, a mais facil de observação das modalidades da molestia que estudamos. Foi ella que forneceu, de um modo geral, o nome que se vê no topo desse trabalho. O tempo de duração dessa modalidade chronica, foi calculado pela media obtida dentre numerosas observações pacientemente registradas.

Elle é de 36 dias. Casos ha de 16, outros de 60, alguns mais raros, de 90 dias. Este tempo não foi, sem duvida, o de maior duração registrado nas observações que colhemos. Este cabe á fórma mixta que evoluiu, de uma feita, em 214 dias. A modalidade cutanea é a unica da molestia que se póde assemelhar á descripta, em Deli, por VRYBURG, ou a estudada na Argentina por SPITZ e LIGNIÉRES. A molestia de VRYBURG, de todas a mais semelhante, apresenta comtudo algumas differenças.

Lá, a molestia é apyretica; invade os ganglios lymphaticos de uma maneira constante e assesta-se nos vasos sanguineos. O pus é inodor. A mortandade é de 10 %. A cura é a regra. E' verdade, que isso poderia ser attribuido a questões de clima e raça. Pensamos que, talvez, a verdade esteja com os que acreditam na identidade da molestia de VRYBURG com a nossa peste dos polmões.

Na modalidade cutanea, os «polmões» ou inchaços» ou ainda os «caroços» dominam quasi todo o quadro morbido (vide Photographias ns. 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9). Casos ha, numa epizootia, onde esta fórma é a dominante. Na grande panzootia de 1919—1920, afóra os casos agúdos, só vimos essa modalidade da molestia (vide Photographias ns. 20—22). Estes polmões apparecem quasi sempre, ao mesmo tempo na superficie do corpo. O aspecto geral dos animaes atacados é caracteristico. Nos casos adeantados (vide photographia nº. 1 e 10), os animaes ficam magrissimos. A desnutrição é um dos symptomas mais constantes da molestia, sob qualquer das fórmas chronicas com que ella se nos apresente. O pello, ralo sobre as saliencias dos polmões, apresenta-se arripiado, eriçado, de tufos, no dorso do animal.

O estado geral é de extrema fraqueza. O animal pouco come. Pode apresentar diarrhea, tosse e «ronqueira». A tosse, quando todos os outros symptomas falham ou são apagados, é, ás vezes, o unico facto que denuncia aos creadores a molestia. A tosse expressa as lesões pulmonares, frequentissimas, que a anatomia pathologica esclarece.

O apparelho respiratorio é frequente e gravemente atacado em todos as fórmas e modalidades da peste dos polmões. São pneumonias, abcessos, bronchites etc.

A «ronqueira» é constituida pela agitação que o ar, ins e expirado, lança, atravez dos bronchios e trachéa, no catarrho, no pus provenientes das lesões alveolares ou bronchicas. A pieira ou ronqueira é o indice muitas vezes do que os sertanejos chamam «polmão interno». Já haviamos, ha 3 annos, no districto de Carmo da Matta (Estação da Estrada de Ferro Oeste de Minas), na fazenda do Coronel OLYNTHO DINIZ, visto esta manifestação gravissima da moles-

tia. Pouco nos demorámos nessa observação. Ligámos o facto a uma associação microbiana com o bacillo de KOCH. Só mais tarde, pela observação cuidadosa e principalmente numerosa da molestia, vimos como é rara essa associação microbiana. Os polmões internos são abcessos, no amago do parenchyma pulmonar, com todos os caracteres dos polmões cutaneos. Dentre os casos observados convém citar, pelo que de ensinamentos elle nos fornece, o da fazenda do nosso eminente patricio o Dr. JOÃO TEIXEIRA SOARES (Fazenda de St. ALDA. Estação Teixeira Soares—Ramal de Entre Rios a Porto Novo. Estado de Minas).

O bezerro, com algum sangue zebú, apresentava a fórma chronica, modalidade cutanea, dissimulada sob um ataque exclusivo aos pulmões. Informou-nos o proprietario da Fazenda ser aquelle um dos casos frequentes de «pneumo-enterite» que elle costumava tratar, sem grandes esperanças de cura.

Era esse um dos taes casos que passaria por outra qualquer cousa menos pela peste dos polmões. O animal apresentava, (revelou-nos uma pesquiza cuidadosa), minimos polmões cutaneos, disfarçados sob o longo pello das patas e dorso.

A ronqueira, unico symptoma que chamava a attenção do proprietario, exprimia a presença de grandes e graves lesões do parenchyma pulmonar, que a necropsia mais tarde confirmou. O animal apresentava ligeira magreza.

Na modalidade cutanea da peste dos polmões, o animal deita-se constantemente e, muita vez, para não mais se levantar. Quando de pé, apresenta-se com o dorso ligeiramente arqueado, como que temendo acarretar, pela distensão dos musculos, dor violenta. Caminha com passos vagarosos, cabeça baixa, vagueando, sem comer, pelos pastos. O numero de phlegmões, que pódem ser contados na superficie cutanea, chega a 64 (bezerro nº. 56). Já contámos 62 num boi, vindo de Curralinho (Estação da Estrada de Ferro Central do Brazil). O tamanho dos tumores cutaneos varia de uma pequena nóz ao de uma turanja. Nestes casos, a quantidade do pus colleccionado póde attingir a cerca de 3 litros (vide Photographia Nº. 10 do boi observado em Lassance). Um facto digno de interesse é que esses abcessos se acham enkystados, numa membrana resistente.

Ha casos, todavia, nos quaes o pus, vence essa barreira, solapando grandes zonas de tecidos. Constituem a excepção.

Excepção tambem, no nosso meio, constituem os chamados polmões internos» de que falámos ha pouco. O pus desses abcessos tem todos os caracteres do fornecido pelos polmões cutaneos. Verificámos, num delles, cerca de 200 grs. de material purulento. E' para admirar que, com tantos focos purulentos, de tamanha extensão, os animaes não apresentem com muito maior frequencia essas colleções de pus nos orgãos internos. Não encontrámos depositos purulentos volumosos em qualquer outro orgão dos animaes doentes. E' possivel que uma observação mais dilatada ainda nos venha provar o erro dessa affirmativa.

As aponevroses profundas são, na maioria quasi absoluta dos casos, respeitadas.

Raramente o pus invade o tecido muscular. Quando isso acontece, ha, envolvendo o pus, uma ganga membranosa espessa, Ha verdadeiras casas no amago do tecido muscular. O pus dos polmões é óra espesso, amarello claro, avermelhado, ou salmilhado, óra quasi liquido, com essa ultima côr. Uma unica vez encontramos o conteúdo dos polmões verdadeiramente hemorrhagico. (boi vindo da Estação de Curralinho). O pus é sempre fétido, e, não raro, de um fétido intoleravel. Nas grandes collec-

ções purulentas (bezerro nº. 22, photographia nº. 12) o pus solapa vastissimas regiões da pelle.

Iniciando o seu processo na pá direita, corroe toda a região contigua, e por vezes faz saliencia no curvejão ou no mocotó do mesmo lado. Nestes casos, encontra-se uma grande zona de pelle descollada completamente dos tecidos subjacentes. Estes abcessos, mesmo os de grande carga, podem se conservar fechados até a morte do animal. Pódem tambem se ulcerar, deixando escorrer para o exterior a massa fétida purulenta. Os residuos desse processo são grandes cavidades sulcadas na pelle. Aqui uma das complicações mais communs é a chamada «bicheira». Nunca observámos hemorrhagias graves, facto já para prever, uma vez como o pus abre caminho sob a pelle respeitando as aponevróses profundas. Num unico bezerro, nº. 27, inoculado com triturado de carrapatos *(Boophilus microplus* e *Amblyomma cayannense)* o pus vencera essas aponevróses, herniára na cavidade abdominal, onde o peritonio o circumdára de adherencias protectoras, fortes, evitando uma peritonite purulenta generalizada.

Quando pequenos, esses polmões têm consistencia dura. Aspirado em pipetas estiradas, de vidro, calibre fino, o pus desses phlegmões, mal póde escapar, mesmo empregando grandes aspirações. Só com pipetas de calibre avantajado é possivel obter então, um pus espesso, cremoso, fétido.

Com o desenvolvimento do abcesso, percebe-se, pela palpação, flutuação franca, calor local, e, não raro, choque de onda. O chocalhar é mesmo um symptoma digno de registro nalguns casos da molestia. Nas inoculações experimentaes verificámos, muitas vezes, que as inoculações de pus produzem desde o inicio esse symptoma. A percussão dá ao ouvido um som particular; a palpação ao tacto uma sensação inconfundivel. Seria, como se estivessemos agitanto dentro de um vaso, de paredes flaccidas, uma certa quantidade de liquido (pus liquido). O bezerro apresentado na photographia nº. 23 foi um desses casos. Foram essas manifestações cutaneas phlegmonosas—os «polmões»—que nos levaram, no inicio, a crer na relação estreita entre a molestia dos nossos rebanhos e a de SORILLON. Depois que lemos o trabalho cuidadoso de LIGNIÉRES e SPITZ, na Argentina, sobre a actinobacillose, verificámos que tambem com essa molestia ha pontos de contacto. Não ha, porém, confusão possivel. NOCARD, que tão pormenorizadamente estudou a molestia de SORILLON, dá, no artigo já citado, desenho bem expressivo.

Os polmões nem sempre se apresentam, manifestadamente salientes, na superficie cutanea. Casos ha, em que se torna preciso pesquizal-os, com cuidado, sobre o corpo do animal. E' preciso assignalar que isso não acontece apenas com os de pequena capacidade. Polmões ha, de cerca de 500 grs., que por um dispositivo especial de localização no corpo do animal, não se deixam ou mal se deixam perceber. Dahi, muito «Curso preto», «Curso sanguinolento», «Curso simples», «Ronqueira» etc. serem apenas casos bons da peste dos polmões. Nas regiões onde a pelle do bovideo é dura e distendida sobre superficies osseas, o pus, premido pelas circunstancias, ganha em largura o que perde em altura: torna-se diffuso, sem os limites definidos que, no commun dos casos, os polmões apresentam. Ao envez de um abcesso nitidamente circumscripto, encontramos vastas regiões da pelle solapadas pelo pus.

A unica barreira que ainda aqui, é respeitada, é a das aponevróses profundas.

Quando á superficie ossea se superpõe um tecido cutaneo flexivel, o pus ap-

parece com facilidade, ainda quando colleccionado em pequena porção.

São pequenas saliencias, que no dorso da rez, o olhar de soslaio surprehende.

Quando a pelle cobre tecido frouxo, sobre este incide o peso da massa purulenta, fechada na ganga resistente de que falamos atráz.

E' por isso que, nestes casos, só os grandes depositos de pus sub-cutaneos conseguem chamar a attenção dos observadores.

E' o contrario disso o que se vê, quando a pelle, resistente, cobre massas musculares fortemente distendidas.

Os animaes não estabulados, ao lado das «bicheiras» que invadem os polmões ulcerados, podem apresentar infecções secundarias de origem microbiana nos focos cutaneos do pus, e maior ou menor quantidade dos chama-*minis)*. O aspecto do animal torna-se então BERNES (Larvas da *Dermatobia ho*tão miseravel.

Verrumado pelo pus, corroido pelos bernes e bicheiras, magro, com os ossos á mostra sob a pelle repuxada e coberta de «caroços» ulcerados ou não, sobre os quaes esvoaçava um enxame de moscas, o pobre animal vaguea, com andar lento e muitas vezes titubeante, pelos campos e cerrados até que, devorado pela sêde ardente que lhe inflinge a febre elevada, vae morrer nos atoleiros das margens dos rios, ou nos alagadiços terrenos de certas vargens á procura do que lhe metigue a sêde. E' impressionante o quadro desses animaes.

Essa morte á beira dagua não é rara. Muitos creadores chamaram nossa attenção para o facto. Cada qual dava interpretação diversa. Justamente a grande fraqueza em que se encontra o animal é que o impede de se safar, em tempo, achamos nós, desses terrenos pantanosos.

Ha outra complicação que convem annotar. E' a que apresentamos na photographia do bezerro nº. 250. Constitue uma complicação cuja sobrevença é observada frequentemente na molestia, e cujos maleficios não são para desprezar.

Ella se expressa por uma tumefacção ao nivel das articulações, principalmente das patas anteriores. Este inchaço tem origem varia. Ora é local, isto é, producto de um polmão que nos tecidos periarticulares se installou; ora é o ultimo termo da evolução de um polmão longinquo, e em plano superior, que, tendo solapado grandes zonas, tende naturalmente para as de maior declive, colleccionando-se naquellas aonde a pelle se esbate e se distende contra as superfices epiphysarias dos membros. Ha ainda casos nos quaes a tumefacção é o resultado apenas de um edema localizado, hemorrhagico ligeiramente, que circumda as articulações dos membros dos animaes.

O inchaço tem o aspecto, ás vezes, de um verdadeiro polmão: saliencia arredondada, com uma parte mais proeminente e molle, com franca flutuação, de contornos nitidos, De outras vezes é uma tumefacção diffusa, com o aspecto do edema simples, mas de facto contendo pus. Estas fórmas comfundem-se com as que acima nos referimos, de verdadeiro edema ligeiramente hemorrhagico.

Esta complicação tem certa importancia, porque ella póde impedir a marcha do animal, obrigando-o a permanecer deitado, e, não raro a morrer de fome e sêde nas restingas do carrascal. Disto se queixaram muitos creadores.

Este quadro presenciámos innumeras vezes.

Outro aspecto que merece registro, si bem que não possamos indicar como verdadeira complicação, é o chamada PAPO dos bovideos.

O «PAPO» dos bovideos foi registrado pelos creadores e obtido experimentalmente por nós (bezerro Nº. 252. Vide photographia Nº. 18).

A localização da lesão é que levou

os creadores a suppor tratar-se de um «papo» semelhante ás lesões do homem e de certos animaes (lesões da glandula thyroidéa). Ella se assesta debaixo do queixo do animal, podendo se extender até a raiz do pescoço. O bezerro nº. 252 foi inoculado com triturado de visceras de outro animal doente. Apresentou, muitos dias após, um inchaço sob o queixo com apparencia de um papo. E' bem de ver que se não tratava de uma lesão da thyroidéa. Elle teve a molestia typica.

Tivemos um caso muito significativo sobre o modo de encarar a origem real da lesão.

O papo deste bezerro appareceu e desappareceu em horas. O desapparecimento fez-se em menos de 24 horas, sem deixar o menor vestigio.

Seria esse papo da mesma natureza que a das lesões chamadas tropho-neuroticas no homem? Ou seriam simples edemas de natureza renal?

Pensamos, pelos dados de anatomia pathologica da molestia, que essa ultima hypothese é a mais plausivel.

O papo, verificámos em necropsias, é constituido por um edema gelatinoso que se deve formar por um processo semelhante ao que se observa nos casos agudos da molestia ou mesmo em certos casos chronicos.

Tem-se, á palpação, a sensação de uma pasta semi-solida. Ao córte, escorre uma serosidade amarello-citrino.

Um accidente commum é o aborto nas vaccas prenhes. Não raro morrem mãe e filho. Quando estes sobrevivem, parecem herdar o microbio, tal é a precocidade com que se apresentam com a molestia.

Lògo nos primeiros dias de vida apresentam polmões, havendo, além do mais, notavel retardamento no desenvolvimento do animal. A temperatura dos animaes com essa fórma clinica da molestia é expressiva (vide graphicos ns. 65, 66, 56, 8, 200, 19, e D.) Fornecemos, junto, os graphicos ns. 20 e 26, de bois normaes, para ponto de reparo.

A temperatura dos bovideos sadios ou doentes foi colhida durante largo tempo.

Ha, na modalidade cutanea, quasi sempre febre, e, muitas vezes, febre alta. Os casos de hypothermia são rarissimos (graphico nº. 32).

A temperatura normal de um bovideo varia entre 39 e 40 ºC. no Est. de Minas Geraes. A temperatura dos animaes com a fórma chronica, modalidade cutanea, póde se elevar até 42 ºC. (vide graphico nº. 59 e 22) e ahi se manter durante muitos dias.

Não é, todavia, a altitude nos traçados que a caracteriza. Seu aspecto é, guardadas as distancias, o dos typos de febres suppurativas do homem. As oscillações, porêm, aqui, são em alguns casos ainda mais accentuadas. 2, 3, 4, graus de differença já foram notados da manhã para a noite. (vide graphico boi D.).

Tivemos algumas observações da fórma typica chronica, modalidade cutanea (vide graphicos nrs. 20 e 21), nas quaes a temperatura mal attingiu a 40 ºC., isto é, permaneceu dentro do limite maximo a que normalmente póde attingir a temperatura de um bovideo. A esse aspecto raro podemos oppor outro que tambem o é. O graphico nº. 22 mostra uma face diversa, opposta da que acima descrevemos.

Este animal apresentou a fórma grave, chronica, modalidade cutanea, obtida, experimentalmente, pela inoculação de pequena quantidade de pus virulento sob a pelle. A temperatura manteve-se acima de 40 ºC., durante quasi um mez, ininterruptamente. Chegou acima de 42 ºC. (42,1 ºC.) no dia 26 de Junho pela tarde), e manteve-se entre 41º e 42ºC., durante 16 dias.

Nas fórmas chronicas graves, como na aguda, deve-se assignalar que, dias

antes do exito lethal, ha baixas notaveis na temperatura do animal.

A temperatura desce a 37 e 36 °C. e poucos decimos (vide graphicos nrs. 70, 20, 9, 66, e 56). Nos casos de peste dos polmões, desta modalidade, nos quaes a febre se mostra nos limites que consideramos normaes, ha, para assignalar as baixas repentinas e repetidas, dando oscillações interessantes. Não se vê isso nos casos de bois normaes. E' preciso, comtudo, não empregar nesse facto um elemento decisivo para o diagnostico. Outros males dos bovideos podem apresentar a mesma curva thermica. Nessa modalidade vemos ainda grandes enfartamentos ganglionares, mesmo da rede sub-cutanea. Vêmos em muitas photographias, os ganglios circumflexo-iliacos, e os iliacos externos (37) (são os mais communs) consideravelmente augmentados de volume.

Fizemos estudos especiaes nesse sentido. Não se trata de lesão particular, por um microbio especifico (38). As lesões ganglionares são epiphenomenos das lesões dos outros orgãos.

Parece, pela leitura do trabalho de VRYBURG (ob. cit.), que as lesões ganglionares são constantes na molestia em Delhi. MARQUES LISBOA e EZEQUIEL DIAS assignalaram este facto entre nós. Insulamos dos ganglios germens vulgares de suppuração, ao lado de bacillos mais ou menos semelhantes, aos que descrevemos paginas atraz.

Ha outra manifestação nos bovideos com essa modalidade (póde apparecer tambem nas outras), que se assesta para o lado do apparelho buccal.

São lesões do epithelio, soluções de continuidade sem grandes caracteristicos, mas que acarretam salivação abundante (é preciso não as confundir com as da aphta epizootica). O periodo ultimo dessa modalidade é quasi sempre acompanhado de diarrhea (ás vezes «preta»—curso preto—boi nº. 26, inoculado com triturado de carrapato). Alguns casos, e mesmo alguns focos da molestia, caracterizam-se pela presença, desde o inicio, deste symptoma.

Esses casos são verdadeiras fórmas mixtas, já assignaladas entre nós, e que tivemos occasião de presenciar innumeras vezes—naturaes ou experimentaes.

Aproveitamos a opportunidade que nos deparava para um exame clinico mais completo, e resolvemos perquerir o aspecto hematologico (39, 40 e 41) dos casos apresentados. Daremos aqui um quadro de conjuncto sobre a curva hemoleucocytaria dos bovideos com a peste dos polmões (sob varias fórmas), especificando a modalidade da molestia. Devemos desde já affirmar que jamais nos foi possivel encontrar nos preparados, a fresco ou corados, do sangue dos animaes, com qualquer das modalidades clinicas, protozoario, bacteria ou cogumelo. A technica que seguimos para as contagens globaes foi a seguinte: hematimetro de REICHERT (WIEN), com liquidos de THOMA e HAYEM.

Para contagens especificas: distensão do sangue em camadas finas sobre laminas novas, rapido deseccamento ao ar, e coloração pelo MAY—GRUNWALD—GIEMSA. Escolhemos os casos que nos pareceram mais typicos, e em bôas condições de observação. Procurámos, por outro lado, executar as pesquizas obedecendo á mesma technica para todos os casos.

O que acima ficou dito sobre a ausencia de bacterias nos esfregaços de sangue poderia parecer uma contradição com o que foi asseverado paginas atráz sobre hemoculturas. E' necessario ficar bem claro porêm, que o assumpto só poderá ser apreciado pelos que conhecem as dificuldades do laboratorio. nesse terreno. Entre tantos outros, para nossa justificativa, basta citar o exemplo dos bacillos de EBERTH, que presentes nas hemoculturas não são encontrados nos esfregaços directos de sangue humano. Ninguem pesquiza este bacillo

distendendo o sangue sobre laminas. se- não sómente pelas largas sementeiras que com elle fazemos em caldo ou bile.

O que escapa ou póde escapar ao olhar, revelam-nos os meios apropriados. O que não pode ser encontrado numa gotta, sel-o-á facilmente em 5 ou 10 c.c.

Contagens Globaes.

Boi normal 42.

Numero de Hematias por millimetro cubico	Numero de Leucocytos por millimetro cubico em média.
6.000.000. (média de 6 auctores).	8.500.

Contagens especificas.

Boi normal.

Percentagens:

Grandes Mononucleares	Eosinophilos	Basophilos	Neutrophilos	Formas de transição
1,5 o/o	1 a 2 o/o	Até 0,5 o/o	60—70 o/o	1,5 o/o

Grandes lymphocitos	Pequenos lymphocitos
25—35 o/o	

Ahi ficam, para comparação, os dados referentes aos bois sadios. Vamos transladar agora para este trabalho os que colhemos nos bois com a peste dos POLMÕES.

Daremos, em primeiro lugar, as contagens globaes, e em seguidas as especificas.

Contagens Globaes.

(Bois doentes).

Numero de ordem	Nu. de Hematias por mill. cubico	Nu. de Leucocytos por mill. cubico	Numero ou nome do animal,	Forma da molestia
N. 1	1.344.000	40.200	N. 56	Forma chronica cutanea grave, natural. Morreu.
N. 2	3.132.000	9.300	N. 8	Forma chronica cutanea, grave, experimental. Morreu.
N. 3	3.576.000	7.500	N. 29	Forma chronica cutanea, muito benigna, experimental. Alta.
N. 4	4.369.000	7.900	N. 30	Forma chronica toxica, grave, experimental. Morreu.
N. 5	7.816.000	18.600	An. Elias. n. 1.	Chronica, cutanea grave, natural.
N. 6	5.264.000	18.600	An. Elias. n. 2.	Forma chronica grave, cutanea, natural.

Contagens Globaes

(Bois doentes).

Numero de ordem	Nu. de Hematias por mill. cubico	Nu. de Leucocytos por mill. cubico	Numero ou nome do animal.	Forma da molestia
N. 7	9.810.000	14.000	N. 58.	Forma chronica benigna, toxica. Experimental. Inoculado com triturado de carrapatos.
N. 8	5.412.000	11.000	S. I.	Forma chronica muito benigna. Alta.
N. 9	4.784.000	3.200	D	Forma chronica grave, cutanea natural. Morreu.
N. 10	1.472.000	2.400	F. Sá 1	Forma chronica, cutanea, grave, natural. Morreu.
N. 11	3.392.000	9.200	F. Sá 2	Forma chronica, cutanea, grave, natural. Morreu.
N. 12	4.328.000	12.400	N. 23.	Forma chronica, cutanea.
N. 13	3.808.000	5.700	N. 2. X. Piripiry.	Forma chronica, cutanea, grave, ¾ natural. Morreu.
N. 14	4.000.000	7.400	I. X. Piripiry.	Forma chronica, cutanea, grave, natural. Morreu.
N. 15	6.300.000	7.000	N. 63.	Forma chronica, toxica, grave, natural. Morreu.
N. 16	2.758.000	15.900	N. 65.	Forma chronica, toxica, grave, natural. Morreu.
N. 17	2.096.000	10.100	U. I.	Idem, ibdem, cutanea benigna, natural.

Contagens especificas. (Leucocytos).

(Bois doentes).

Percentagens:

Numero de ordem.	Numero ou nome do boi.	Forma da molestia.	Grandes mononucleares.	Eosinophilos.
N. 1	N. 65.	Forma chronica, cutanea, grave, natural. Morreu.	8 o/o	1 o/o
N. 2	N. 8.	Forma chronica, cutanea, grave, experimental. Morreu.	6 o/o	8 o/o
N. 3	N. 29.	Forma chronica, benigna. experimental. Alta.	9 o/o	4 o/o

Necropsias com sementeiras, para pesquisa dos bacillos typo VRYBURG e outros germens nos orgãos dos animaes.

Numero de ordem	Nome	Molestia	Necropsia	Resultado para bacillo typo VRYBURG.	Resultado para os Diplococcus Polmonae.	Resultado para outros germens.
N. 1	Boi n. 2 F. Sá.	Molestia natural. Modalidade cutanea	Immediata.	Negativo.	Negativo.	Negativo.
N. 2	Boi n. 1 F. Sá.	Como na n. 1.	«	«	«	«
N. 3	Bezerro n. 19	«	«	«	«	«
N. 4	Bezerro de Lassance	«	«	«	«	«
N. 5	Bezerro n. 24	Experimental, chronica cutanea.	«	«	«	«
N. 6	Bezerro n. 15	Molestia natural chronica modalidade cutanea.	«	«	«	«
N. 7	Bezerro n. 16	Molestia experimental. Chronica.	«	«	»	«
N. 8	Boi de curralinho.	Molestia natural Fórma chronica POLMÕES.	«	«	«	«
N. 9	Bezerro n. 13	«	«	«	«	«
N. 10	Bezerro n. 3	Molestia experimental.	Immediata.	Negativo.	Negativo.	Negativo.

Necropsias com sementeiras, para pesquisa dos bacillos typo VRYBURG e outros germens nos orgãos dos animaes.

Numero de ordem	Nome	Molestia	Necropsia	Resultado para bacillo typo VRYBURG.	Resultado para os Diplococcus Polmonae.	Resultado para outros germens.
N. 11	Bezerro n. 5b	Experimental. Aguda.	«	«	«	«
N. 12	Bezerro n. 4	Experimental. Aguda.	«	«	«	«
N. 13	Bezerro n. 27	Experimental. Chronica.	«	«	Insulou-se do figado o "Diplococcus polmonae" b.	«
N. 14	Bezerro n. 66	Molestia natural. Chronica POLMÕES.	«	«	Não se insulou.	Todos os tubos de sementeira dos orgãos estavam estereis, salvo alguns do *Figado*, donde insulamos coccos comuns (Estaphylo e Estreptococcos.) Dos *ganglios*, em vida, alem desses "Coccus" insulamos um typo *Pasteurella*.
N. 15	Bezerro n. 56	Molestia natural. Chronica.	«	«	«	N'alguns tubos, a maioria, contaminações varias, por bacterias e cogumelos do ar.
N. 16	Bezerro A. E.	Natural. Chronica.	«	«	Negativo.	Negativo.

Necropsias com sementeiras, para pesquisa dos bacillos typo VRYBURG e outros germens nos orgãos dos animaes.

Numero de ordem	Nome	Molestia	Necropsia	Resultado para bacillo typo VRYBURG.	Resultado para os Diplococcus Polmonae.	Resultado para outros germens.
N. 17	Boi n. 65	Natural. Chronica. Toxica.	Immediata	Negativo.	Negativo.	Insulou-se do figado 1 bacillo movel pequeno, GRAM negativo, (maior que os de VRYBURG.) que fermentava a glycose e a lactose.
N. 18	Boi n. 63	Natural. Chronica. Toxica.	«	«	«	Insulou-se do triturado dos orgãos (coração, figado, rins) 1 bacillo, longo, extremidades a pique, GRAM positivo, muito movel; 1 bacillo typo *Pasteurella*.
N. 19	Bezerro n. 400 Teixeira Soares.	Natural. Chronica. Cutanea.	«	«	«	Insulou-se: Do baço—um bacillo GRAM negativo, grosso, atarracado. Do figado—um bacillo GRAM positivo.
N. 20	Bezerro n. 68	Experimental Chronica mixta (Intestinal e POLMÕES).	«	«	«	Alem de varios Coccos (Estaphylo e Estreptococcos) insulamos do figado — cocco— bacillo, grande, GRAM negativo.

Bois doentes. Contagens especificas dos Leucocytos. Percentagens.

Numero de ordem	Numero ou nome do boi	Forma da molestia	Grandes mononucleares	Eosinophilos	Basophilos	Neutrophilos	Pequenos lymphocytos	Grandes lymphocytos.	Formas de transição
N. 1	56	Forma chronica, grave, cutanea, natural. Morreu.	8. o/o	1. o/o	0. o/o	68. o/o	14. o/o	5. o/o	4. o/o
N 2	8	Forma chronica, cutanea, grave, experimental. Morreu.	6. o/o	8. o/o	1. o/o	18. o/o	31. o/o	23. o/o	3. o/o
N. 3	29	Forma chronica, benigna, experimental. Alta.	9. o/o	4. o/o	1. o/o	36. o/o	19. o/o	34. o/o	— — — —
N. 4	M. 1	Forma chronica, cutanea, benigna, natural.	12. o/o	17. o/o	1. o/o	27. o/o	12. o/o	31. o/o	— — — —
N. 5	F. Sá N. 1	Forma chronica, cutanea, grave, natural. Morreu.	7. o/o	2. o/o	1. o/o	27. o/o	21. o/o	38. o/o	4. o/o
N. 6	F. Sá N. 2	Forma chronica, cutanea, grave, natural. Morreu.	5. o/o	0. o/o	2. o/o	56. o/o	26. o/o	9. o/o	2. o/o
N. 7	N. 23	Forma chronica, cutanea.	17. o/o	5. o/o	1. o/o	16. o/o	23. o/o	34. o/o	4. o/o
N. 8	1. X. Piripiry	Forma chronica, cutanea, grave, natural.	6. o/o	2. o/o	0. o/o	58. o/o	14. o/o	19. o/o	1. o/o
N. 9	2. X. Piripiry	Forma chronica, cutanea grave, natural.	4. o/o	6. o/o.	0 o/o	56, 8. o/o	13. o/o	20. o o	1. o o

Bois doentes. Contagens especificas dos Leucocytos. Percentagens.

Numero de ordem	Numero ou nome do boi	Forma da molestia	Grandes mononucleares	Eosinophilos	Basophilos	Neutrophilos	Pequenos lymphocytos	Grandes lymphocytos.	Formas de transição
N. 10	N. 63	Forma chronica, grave, toxica, natural.	3, 5. o/o	1, 5. o/o	1, 5. o/o	45, 5. o/o	7, 5. o/o	36. o/o	4, 5. o/o
N. 11	N. 65	Forma chronica, grave, toxica, natural.	4. o/o	2. o/o	1. o/o	61. o/o	5. o/o	21. o/o	6. o/o
N. 12	D.	Forma chronica, cutanea, grave, natural.	0. o/o	0. o/o	9. o/o	41. o/o	15. o/o	26. o/o	9. o/o
N. 13	A. E. n. 1	Forma chronica, cutanea, grave, natural.	2. o/o	10. o/o	0. o/o	46. o/o	18. o/o	21. o/o	3. o/o
N. 14	A. E. n. 2	Forma chronica, cutanea, grave, natural,	6. o/o	0. o/o	1. o/o	47. o/o	11. o/o	30. o/o	5. o/o
N. 15	N. 58	Forma chronica, benigna, experimental, toxica. Inoculado com filtrado em vella Berckefeld--pus.	40. o/o	0. o/o	0. o/o	30. o/o	6. o/o	20. o/o	4. o/o

Da observação registrada, com respeito ás contagens globaes no sangue dos bovideos com a peste dos polmões, deprehende-se, em primeiro logar, que ha sempre anemia, (fórmas chronicas) expressa numa, ás vezes grande, pobreza de hematias—A cifra media que colhemos dentre 6 autores foi de 6.000.000 de hematias, para os bois sadios por millimetro cubico de sangue.—Alguns ha que dão 5, outros 7 milhões de globulos vermelhos por millimetro cubico. Em 17 observações colhidas só em 3 unicos casos conseguimos cifras acima de 6 milhões—de hematias—nos bois com a peste dos polmões. A minima registrada foi de 1.314.000. Havia pois, aqui, uma pobreza séria de globulos vermelhos.—Sem chegar comtudo sempre a esse extremo, a cifra constante das hematias, nos bois doentes, manteve-se abaixo da normal.—O numero de leucocytos por millimetro cubico variou muito. A cifra normal, segundo MAREK, varia entre 7 e 10 mil. 7 vezes em 17 tivemos o afastamento dessa cifra, sendo que numa dellas de modo notavel (Observação nº. 1). Ao augmento porém, até 40.000 globulos brancos podemos oppor a diminuição á 2.400 por millimetro cubico. Em ambos havia diminuição de globulos vermelhos; ambos eram da modalidade cutanea. De um modo geral podemos affirmar que os globulos brancos, na peste dos polmões, quando não se apresentam sob a cifra normal (dentro dos limites acima referidos), mostram-se, não raro, bem augmentados—. O exame da especie do leucocyto encontrado, revelou-nos tambem, por outro lado, dados de certo alcance. Salienta-se vigorosamente a MONONUCLEOSE com que se apresentam quasi todos os casos observados. Ella póde attingir a 17. % do total de leucocytos contados, quando a cifra normal deve chegar a 1,5 % apenas deste total. Noutros casos ha EOSINOPHILIA, ás vezes, accentuada (Obser. nº 4 19 %). Correrá tambem este augmento de cosinophilos por conta das lesões cutaneas ou, o que não é improvavel, pelos vermes que commumente habitam o tubo gastro—intestinal dos bovideos. Os basophilos apresentam-se ligeiramente augmentados os neutrophilos mostram-se, na maioria dos casos, com a cifra abaixo da normal.

Ha LYMPHOCYTOSE e, na maioria dos casos, lymphocytose notavel. A cifra dos lymphocytos é bastante elevada em quasi todos os casos. Grandes e pequenos lymphocytos devem se apresentar sob a cifra de até 35 % do total de leucocytos contados (MAREK).

Só 4 vezes, em 17 casos verificados, tal aconteceu. 59 % foi a maxima de lymphocytos encontrados. Predominam os grandes lymphocytos. O aspecto geral do sangue macro e microscopicamente é digno de estudo. Quando se retira o sangue dos bois com a peste dos polmões em periodo adeantado da molestia, verifica-se a comfirmação daquillo que as pesquizas de contagens já nos haviam indicado para a maioria dos casos, isto é, um sangue anemiado.

Tem-se a impressão de um sangue diluido, de coagulação retardada. Estes sangues têm sempre uma taxa de hemoglobina muito baixa. Não conseguimos numero sufficiente de casos para uma conclusão definitiva respeito a cifra media exacta dessa substancia corante do sangue. O exame microscopico do sangue, a fresco ou corado, merece registrado. O exame a fresco não nos revela, salvo o numero de hematias ou grandeza de leucocytos, cousa alguma importante.

Tentámos innumeras vezes essa pesquiza na esperança de encontrar por esse caminho algum elemento esclarecedor da etiologia da molestia.

O exame do sangue distendido, deseccado e corado é mais interessante nos pormenores que nos revela. As hematias mostram-se com alterações do tamanho, côr e fórma. Vemos hematias nucleadas, pigmentadas (pigmento finissimo, aver-

melhado pelo corante de ROMANOVSKI ou modificações).

O augmento de volume é commum e abundantemente verificado nas laminas bem preparadas. Se nos fôra licito empregar termos, si bem que arrevezados, muito ao sabor dos que se dedicam a esses assumptos, diriamos ter encontrado ANISOCYTOSE, POIKYLOCYTOSE, e HYPERCHROMEMIA.

A fórma chronica, modalidade cutanea já foi tambem encontrada nos caprinos e, se fôr verdade o que nos informaram, até nos veados.

Foi justamente no Ramal de Montes Claros, Estação de Francisco Sá, que vimos, pela primeira vez, em plena panzootia de 1919, essa manifestação nos caprinos. O animal tinha os symptomas clinicos semelhantes aos dos bovideos.

Os exames microbiologicos foram identicos.

Antes de passarmos a fórma chronica, modalidade intestinal, queremos assignalar um symptoma, que nos pareceu extranho, mas repetiu-se seguramente 4 vezes durante a longa observação que vimos fazendo. São phenomenos, de verdadeira paralysia, que nos ultimos periodos da modalidade cutanea, pódem os bovideos apresentar. Verificámos isso com o bezerro nº.70, que permaneceu deitado, sem se levantar durante cerca de 13 dias que precederam ao da morte.

Mais tarde, dous outros bezerros—ns. 40 e 37,—de outra serie de experiencias, apresentaram-se com paralysia accentuadissima dos membros posteriores, e com esta lesão morreram. Tivemos mais um ou dous casos, que, por terem sido os primeiros, registramos de passagem.—O periodo de observação dilatado em que permaneciam estabulados os bovideos, a ausencia de qualquer outra epizootia reinante no local, a proveniencia reconhecidamente impermixta dos bezerros, local de onde vieram muitos outros bovideos para outros misteres, sem que cousa alguma apresentassem no mesmo espaço de tempo, a ausencia de corpusculos de Negri no systema nervoso desses animaes, as inoculações negativas deste tecido, a repetição do phenomeno, com largo intervallo, na mesma modalidade e tempo da molestia, fazem pensar que talvez não seja erroneo, em certos casos, filiar os symptomas nervosos ás lesões produzidas pelo virus da peste dos polmões.

Seja como fôr, nosso dever é assignalar o que foi visto, e não o quizeramos ver.

g) Modalidade intestinal. «Curso», «Diarrhéa» «Pneumo-enterite». Natural e experimental, esta fórma é uma verdadeira pneumo-enterite dos bovideos.

Justifica-se pela predominancia dos symptomas intestinaes. Nos bezerros de tenra edade é um facto notavel essa predominancia para os intestinos do virus da peste dos polmões. A' diarrhéa junta-se um emmagrecimento notavel. Tivemos occasião de verificar isto, experimentalmente, inoculando material virulento (pus) em animaes sadios. Ha verdadeiro «CURSO» de aspectos varios, inclusive sanguinolento. Esta fórma é mais rara nos bois adultos. O graphico do boi nº. 39 é o de um caso puro da fórma chronica, modalidade intestinal. Ha febre, falta de appetite, emmagrecimento, lesões pulmonares e, sobretudo, diarrhéa.

Nos casos associados, encontram-se pneumonias, polmões em pequeno numero, mais ou menos disfarçados, que escapam aos creadores. Dahi os pedidos de sôros e vaccinas para «diarrhéa dos bezerros» com que, nestes casos, nos assediam os fazendeiros! O diagnostico aqui é bem facil. Si, porêm, a modalidade continua pura até o final, torna-se muito mais difficil a differenciação com outras diarrhéas, communs nos bovideos, maximé nos bezerros. Só os exames de laboratorio podem decidir a questão.

h) Modalidade toxica—«Mal triste» «Peste de Seccar». (Natural e experimental).

Esta modalidade é uma das mais interessantes da molestia.

Ella encontra base, já nos symptomas clinicos já nos dados de Anatomia pathologica, que colhemos sobre o mal.

Entrevemo-la pela experimentação. A pratica e a observação nos campos vieram confirmar largamente o facto. O grande numero de experiencias que intentámos e executámos no estudo da peste dos polmões, foi o fator unico do esclarecimento deste aspecto da molestia.

Assim é que verificámos, grande numero de animaes inoculados com material virulento, não morria com polmões, diarrhéa, pneumo-enterite, ou em 48 horas.

Casos havia, e numerosos, onde um verdadeiro estado cachetico era o unico symptoma apparentemente digno de registro—(graphico do bezerro N°. 53).

Tão unico se nos apresenta elle, que constituiu para o vulgo base para a denominação sob a qual, em muitas localidades, é a molestia conhecida:—«Peste de Seccar» (*). Na modalidade cutanea são os phlegmões cutaneos que dominam o quadro; dahi «Peste dos polmões» Aqui, é a magreza que predomina no scenario morbido; dahi «Peste de Seccar».

A evolução desta modalidade faz-se em muitos dias. O animal do graphico n°. 53 durou 34, contados após a inoculação virulenta.

Parece-nos, todavia, que essa é a fórma sob a qual a molestia se apresenta mais arrastada. A média obtida nos casos que registramos foi de 60 dias para a evolução do mal. Um delles durou cerca de 180 dias, tantos quantos pudemos observar o animal.

A modalidade toxica da peste dos polmões inicia-se da mesma maneira que a cutanea. Tristeza, falta de appetite, etc. etc..

A evolução é que varia. Emquanto que naquella os polmões dominam a scena em todo tempo, nesta, um ou outro polmão que tenha apparecido (podem não apparecer), apaga-se para nem siquer deixar na pelle o signal da ulceração. E' commum verem-se bezerros com taes residuos (cicatrizes de aspectos varios), quasi sempre attribuidas aos bernes, seccando dia a dia—O bezerro n°. 53 não apresentou, todavia, siquer um unico polmão. E' um exemplo do quanto deve ser difficil em muitos casos o diagnostico differencial desta modalidade da molestia.

O bezerro n°. 53, no emtanto, está fóra de qualquer duvida. Foi um caso experimental.

As necropsias, nesses casos, excluem decisivamente a tuberculose bacillar de KOCH. Não é fóra de proposito assignalar que nas dezenas de necropsias que praticámos, só uma unica vez, na modalidade cutanea, (bezerro) encontramos fócos pulmonares incipientes provocados pelos bacillos de KOCH.

Eram fócos em formação. Não havia caseificação nem cavernas.

Não seria, porêm, de admirar encontrarmos casos daquella associação microbiana. Os casos mais communs da modalidade toxica são aquelles nos quaes os bezerros apresentam um ou outro «polmão», pouco accessivel á vista, tristeza, pronunciada (dahi «mal triste») profundo abatimento, ligeira diarrhéa, (nos periodos ultimos pode haver diarrhéa intensa, escura) febre, falta de appetite, e, principalmente, magreza cada vez mais accentuada.

Não ha regimem que o engorde. Facto digno de interesse é que essa modalidade pode ser, algumas vezes, o epilogo da modalidade cutanea da molestia.

O animal apresenta-se a principio com a peste dos polmões propriamente dita.

(*) Sabemos haver trabalhos que attribuem, pelo menos nalgumas localidades, a chamada «peste secca» a uma verminose pulmonar.

Muitos mezes após, desapparecidos os polmões, deixando ou não residuos, installa-se o emmagrecimento. Quando se nos mostram as vezes neste periodo difficilmente poderemos fazer um diagnostico retrospectivo.

Só quando se acompanha, como fizemos, dia a dia, a evolução do mal é que se torna possivel esclarecer a questão.

As fórmas puras da modalidade são, entretanto, correntes.

O animal com o pello arripiado, somnolento, rameando, com a cauda e chans denegridas pela diarrhéa, as costellas á mostra, planta-se num canto do curral ou cocheira. O estado de fraqueza é extrema. E', com facilidade, projectado ao chão. Vimos muitas dessas fórmas na ultima panzootia dos sertões mineiros.

A temperatura dos animaes pode ser muito semelhante a da fórma cutanea. (graphico nrs. 65, 63, 53). Fóra a elevação, ha grandes oscillações na temperatura, (pode chegar a 41 °C. e poucos decimos).

Ha casos nos quaes a temperatura diaria é sempre elevada (nº. 65).

Outros, onde a temperatura eleva-se sómente alguns decimos apenas.

Na modalidade cutanea da peste dos polmões, as lesões são mais cutaneas; na modalidade toxica, são mais renaes.

Para finalizar este já longo capitulo, diremos que as modalidades da fórma chronica grave da peste dos polmões, podem se apresentar em muitos casos baralhadas, pela associação microbiana multipla ou pela localização varia do parazita causador.

São as fórmas MIXTAS. Não constituem raridade em Pathologia humana ou animal.

CLINICA.

FORMAS ANOMALAS.

a) Cutanea.

Os bovideos podem apresentar ainda um unico polmão de evolução anomala.

No inicio, pela palpação, tem-se a impressão de sentir rolar sob os dedos, um ganglio resistente, fibroso, ligeiramente augmentado de volume, que, sem esforço, se desloca sob a pelle.

Um, dous mezes assim permanece o polmão.

Com o tempo, seja por que causa fôr, apressa-se a evolução do phlegmão, que augmenta de volume, hernia sob a pelle, tomando os aspectos e caracteres, já descriptos, dos polmões communs.

Muita vez, num bovideo dado, elle é unico em todo corpo. Os fazendeiros tomam-no como um abcesso commum. O simples esvaziamento é a therapeutica indicada. Obtem-se experimentalmente estes casos. Abrindo-se um tal polmão na 1ª phase, percebem-se os caracteristicos principaes de todos, e, particularmente, uma notavel espessura da capsula protectora.

Os bezerros apresentam uma curva thermica expressiva e um notavel emmagrecimento.

Apezar do esvaziamento do pus, a morte pode ser o resultado desta molestia anomala.

E' que a apparencia benigna do mal, pela unicidade da manifestação cutanea, das lesões visiveis, esconde de facto, um alto grau de malignidade pelo ataque aos rins e pulmões.

Fica, assim, mais uma vez, evidenciado como sob simples aspectos de abcessos communs, podem certos bovideos ser verdadeiros reservatorios abundantes do virus, na molestia de VRYBURG.

A ignorancia que taes casos têm veterinarios ou simples fazendeiros, concorre para a perpetuação do virus.

b) Fórma articular.

Já demos, em outro capitulo deste trabalho, photographias e descripção do que poderiamos chamar fórma «pseudo-articular» da molestia, pela localisação

sub-cutanea, juxta-articular dos polmões ou edemas.

Aqui, porêm, vamos encontrar uma fórma articular verdadeira.

Natural ou experimental, o animal della atacado, revela-se, no meio da boiada, pela claudicação das patas anteriores ou posteriores. A's vezes elles claudicam de uma unica pata. Não raro o animal «manca» de 3 patas.

Examinando a pelle não se percebe, em alguns casos, siquer os vestigios de polmões. Noutros ha raros polmões typicos, em plena evolução. Só ha lesões nas articulações. Todos os apparelhos parecem sãos, salvo o locomotor.

O animal, no inicio, come bem, apresentando por isso um estado geral regular.

No começo da molestia a marcha ainda é possivel. Aqui é bem patente a séde da lesão. Quando o mal vae adeantado poder-se-ia confundir com certas lesões nervosas. Foi a principio o que suppuzemos, quando vimos o 1º caso. dado o que já conheciamos da molestia (vide phenomenos de paralysia na parte clinica).

O animal a principio ainda caminha. Atraza-se nas marchas forçadas das manadas. O passo claudicante obriga-o a perder terreno nas caminhadas a prazo fixo. A dôr provocada pelo movimento da articulação lesada leva-o a deitar-se de quando em quando. Na lesão uni-articular elle mal póde se apoiar sobre o membro lesado. Na lesão poly-articular, em pouco tempo o bovideo torna-se inapto para a marcha.

Por fim deita-se á beira das estradas, á margem dos corregos, em plena campina e ahi fica abandonado—pelo dono «cançado de tocar o boi malandro e estropiado» até á morte pela fome e sêde.

Nas fazendas do sertão mineiro, na ultima panzootia, contaram-nos os proprietarios, que os animaes muito fracos, apezar de gordos, sem força para se levantar, morriam de fome e sêde nas «cerradas» e catingas, sob a soalheira causticante de Dezembro e Janeiro. Eram casos de fórma cutanea, variedade articular (lesões principaes), como tivemos occasião de verificar pessoalmente.

Ha casos de lesão de uma unica articulação. Outros de lesão das 4 articulações metatarso-phalangeanas, por exemplo. Seria uma poly-arthrite purulenta. Experimentalmente obtem-se essa «variedade pura» pela inoculação de pus virulento na veia de animaes sadios. Nem sempre, porêm, estas inoculações provocam a «fórma articular» pura. Haverá talvez, aqui, uma questão de terreno e germen muito particular.

Alguns dias—3 ou 4—após essa inoculação virulenta—começa o animal a claudicar e, a breve trecho, a molestia se declara como atraz ficou dito.

A palpação da articulação, nesses casos, é extremamente dolorosa. Pode haver ou não ligeiro augmento de volume das mesmas. Algumas vezes não se percebe o menor vestigio de qualquer inchaço.

De outra feita, num dos lados da articulação, nos ultimos periodos da molestia, brota um pequeno polmão cutaneo, ultima etapa de uma collecção purulenta osteo-articular.

O pus nesses casos, assesta-se nas extremidades dos ossos (lesão ossea), necrósa-os ao nivel das superficies articulares.

A necróse do osso permitte ver, no fim de certo tempo, um grande orificio de lados irregulares, no interior do qual nadam sequestros osseos de mistura com o pus.

A principio juxta-articulares, os polmões tornam-se, por fim, articulares.

Esse pus perfura de lado a lado a epiphyse dos ossos. Com uma tenta-canula percorre-se todo êsse caminho fistuloso, esverrumado pelo pus. De um lado ha uma fina pellicula peri ossea; de outro ha ou não um polmão cuta-

neo, juxta-articular, que se communica com a fistula ossea. Quando o polmão falha é a propria pelle peri-articular que barra o caminho do pus.

Este póde respeitar a capsula articular.

Ha tambem, ás vezes, derrame seroso para a articulação interessada no processo inflammatorio.

Da medulla ossea, do derrame intra-articular seroso, do pus que escorre da necróse ossea—insulam-se os germes communs no pus dos polmões, inclusive o «Diplococcus b».

Seriam, como vemos, casos de arthrite unica ou multipla, purulenta, com osteite perfurante ou osteo-myelite.

CONVALESCENCIA E MORTE.

Para utimar a parte clinica do nosso trabalho vamos agora tratar deste capitulo. Os animaes que escapam á molestia arrastam-se numa prolongada convalescencia. Alimentam-se mal, nutrem-se ainda peor. e o estado visivel de decadencia e magreza chama immediatamente a attenção. Uma das vantagens do tratamento especifico é justamente abreviar, nos casos adeantados, esta convalescencia. O ataque aos orgãos essenciaes á vida justifica essa miseria organica. Nos casos da modalidade toxica, o emmagrecimento resiste a tudo. Quando elle attinge a certo grau o prognostico é sempre fatal.

Não ha therapeutica ainda para as lesões de esclerose do parenchyma renal, que são as que provocam este estado de cousas.

Quando o caso caminha para a morte, o graphico thermico denuncia uma baixa notavel da temperatura, dias ou horas antes do exito lethal.

Já nos referimos a isso paginas atraz. A morte é quasi sempre precedida de uma longa agonia nas fórmas chronicas do mal. Nas agudas dá-se o contrario.

A morte é fulminante. Não ha pronomos.

EPIZOOTOLOGIA e GEOGRAPHIA da MOLESTIA.

A molestia, de cujos aspectos clinicos acabamos de dar resumido apanhado, reina, enzooticamente, com surtos epizooticos graves, nos campos do Brazil.

Os surtos epizooticos não têm rythmo caracteristico. No anno de 1919 revestiu-se dos caracteres de uma verdadeira panzootia.

Tivemos então, pela visão directa da mortandade de bovideos de todas as edades, sexos e raças, a impressão do que deve ser num paiz onde se cria bovideos o flagello da peste bovina.

Num dos districtos mineiros aonde pudemos acompanhar a evolução do mal contou-nos um amigo, morador locar, ser a molestia ali conhecida desde tempos remotos, e que as vagas epizooticas não appareciam em annos certos, coincidindo, porêm, com a terminação de outra epizootia, muitissimo conhecida, a da Febre aphtosa».

Panzootia semelhante á de 1919 não vimos noticia em parte alguma.

Em Queimados, arraial proximo á Estação de Francisco de Sá, Estrada de Ferro Central do Brasil, Ramal de Curralinho a Montes Claros, disse-nos um velho habitante da localidade que ha 30 annos conhece a molestia, e que ha mais de 14 não a via com tal violencia. A vaga epizootica do anno de 1919 caracterizou-se pela extensão e quantidade de animaes doentes ao mesmo tempo. No Estado de Minas Geraes (particularmente nas zonas Norte e Oeste do Estado) morreram, naquelle anno, cerca de 60.000 rezes adultas ou não, em poucos mezes.

A epizootia de 1911—1912 foi tambem de certa intensidade, cingindo-se comtudo quasi que aos bezerros, e em particular aos de tenra edade.

De então para cá, nunca conseguimos (até 1919) apanhar senão fócos de maior ou menor intensidade, sem,

todavia, se revestir do caracter de verdadeira epizootia e muito menos de panzootia.

Na panzootia de 1919, todas as raças nos fócos da molestia morriam indifferentemente. Adultos ou ainda mammando eram victimas do mal. Naturalmente quanto mais novo um bezerro, tanto menor a resistencia que offerece á invasão da molestia. As baixadas ou as zonas montanhosas eram indifferentes ao mal.

Margens de rio ou planaltos de alguns mil metros (Estado do Paraná), em todos póde graçar o virus.

A cifra approximada, que fizemos, de 60.000 bois mortos no anno de 1919 serve de base para um simples calculo que aqui deixamos.

Suppondo valer cada boi 120$000, a somma total perdida pelos creadores mineiros (e pois pelo Brazil) foi de 7.200:000$000 (sete mil e duzentos contos). A somma realmente perdida foi, com certeza, muito superior a esta. Bois morreram de custo superior a 1 conto de réis.

Os campos fartos ou a zona pobre em forragens são egualmente acommettidas.

Os fartos campos de «jaraguá» ou de «gordura» são por egual infectantes como os da pobre caatinga.

Os bois de carro, quasi sempre com melhor alimentação que os abandonados nos campos, eram sem distincção atacados pelo mal. Em Minas ha um periodo de anno correspondente, mais ou menos, á entrada da primavera e ao verão, que os creadores chamam do «tempo das aguas». O inverno é secco.

Ha de facto grandes chuvas, principalmente no mez de Dezembro. Já em Outubro iniciam-se os aguaceiros.

Ainda em Março as chuvas são registradas com certa frequencia. Ha excepções a essa regra, e nós mesmo presenciámos alguns annos sem esse rythmo de chuvas e seccas.

O que parece não haver a menor duvida é que as chuvas de Abril e Agosto são, não apenas de menos frequencia senão tambem de menor volume.

Pois bem, o apparecimento dos fócos da peste dos polmões coincide sempre com o do tempo das «aguas».

Durante o resto do anno póde haver um ou outro fóco mais ou menos afastado, com baixa percentagem de morte, (muito menor que durante os periodos de epizootias). A panzootia de 1919 foi uma excepção a essa regra, pois se extendeu pelo tempo das seccas afóra. A mortandade nesta panzootia foi de 99 a 100 % dos casos adultos ou não. Nas epizootias dos outros annos a percentagem de morte é mais baixa. Attinge a 90, 80, e 70 % dos casos observados.

MARQUES LISBOA e EZEQUIEL DIAS assignalaram na epizootia de 1912-1911 uma percentagem de cerca de 95 % de morte entre os bezerros. VRYBURG, em Sumatra, verificou uma mortandade de 10 % nos casos observados. Esta baixa percentagen de morte é a que se verifica, entre nós, durante o chamado tempo das seccas, quando a molestia reina enzooticamente.

Os casos insulados das modalidades chronicas da molestia são benignos por esse tempo. Os bezerros são, ao nosso ver, um dos verdadeiros reservatorios de virus. A molestia pode evoluir até em 214 dias. Ha casos de 180.

Nestes casos quasi sempre o mal vive disfarçado, e durante todo esse tempo, impunemente, pode o portador de virus disseminar a molestia.

Os creadores só irão se apavorar quando, mezes após, surgir daquelle fóco a vaga epizootica.

Pouco lhes preoccupa perder um bezerro, no momento. Esquecem-se que a vida daquelle bezerro, é, muita vez, a do rebanho inteiro.

Accentuemos que, nessa longa peregrinação que é a evolução, nos bovideos, das modalidades cutaneas e toxicas da

peste dos polmões, o animal não vive deitado ou confinado num estreito limite de terreno. Sobram-lhe forças para longas caminhadas, lenta e passo a passo feitas, mas irradiando-se pelos latifundios.

Tão sómente haja uma causa que deprima a resistencia organica dos bovideos em companhia desses reservatorios de virus, (a febre aphtosa, por exemplo) explodirá a epizootia. Durante muito tempo suppoz-se que a peste dos polmões era o apanagio dos bezerros. A alta de verdadeiras panzootias, foi o que levou, com certeza, os autores a esse engano. Já provámos que a peste ataca não sómente bezerros, mas tambem vaccas, bois e caprinos de qualquer edade. O estudo executado levou-nos tambem á conclusão, que os carrapatos são os reponsaveis provados da transmissão da molestia. E' possivel que hajam outros methodos de transmissão, além desse. O caminhar da onda epizootica nada tem de caracteristico. Invade progressivamente os campos, não raro coincidindo o apparecimento da molestia com o acampamento das boiadas, vindas de longe. A panzootia de 1919 coincidiu tambem com grandes levas de bois, trazidos dos sertões mineiros, bahianos e goyanos. A molestia já foi verificada no Estado de Minas nos arredores de Bello-Horizonte, nos municipios e cidades de Juiz de Fóra, Formiga, Patrocinio, Oliveira, Queluz, Paracatú, Serra da Canastra, Lavras, Pomba, Passos, Santa Luzia do Rio das Velhas, Barbacena, Dr. Lund, Vespasiano, Pilar, Silva Jardim, Curralinho, Lassance, Pirapora, Curvello, Montes Claros, Francisco de Sá, Buenopolis, S. Paulo de Muriahé, Teixeira Soares, Anta, Benjamin Constant, Sapucaya, Porto Novo, Corrego d'Anta, Carmo da Matta, F. de Vasconcellos, Queimados, Bocayuva e Grão Mogol.

Acreditamos ,que ainda sobrem numerosos municipios e cidades aonde reina a molestia e dos quaes não tenhamos conhecimentos. Quando nos referimos, não apenas ás cidades, senão tambem aos municipios exprimimos de facto a verdade. Em muitos (a maioria) casos, em torno de uma cidade, contam-se por dezenas de leguas as da região infestada. Na ultima panzootia dos campos de Minas, soubemos que todo o sertão mineiro até os limites com os Estados da Bahia e Goyaz estava sendo devastado pela peste dos polmões. Faltam-nos pormenores, razão pelo qual nada aqui poderemos transcrever. Os telegrammas, os officios, as cartas, recebidos pelo Director do Posto de Observação e E. Veterinaria de Bello Horizonte não apenas dos fazendeiros senão tambem do proprio Secretario da Agricultura do Estado de Minas Geraes são os melhores que poderiamos mostrar sobre o assumpto. A peste dos polmões, na sua variada e complexa fórma clinica existe nos Estados do Rio, Paraná, S. Paulo, Rio-Grande, Bahia, Goyaz, e Matto-Grosso.

Dos campos desses ultimos Estados, acreditamos, provém, com os grandes rebanhos para as chamadas invernadas a molestia para os campos mineiros.

Junto damos um mappa resumindo a distribuição geographica da molestia, segundo os dados que possuimos. E' possivel que mais tarde ainda seja possivel modificar-lhe a feitura.

Em nossos estudos no Instituto de Hygiene de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, verificámos, pela 1ª vez, a existencia da molestia de VRYBURG naquella cidade do Brazil. A molestia é bastante disseminada naquelle Estado.

No inicio do verão começam a surgir os casos, quando tambem principiam a apparecer os carrapatos.

Pelo inverno os casos tornam-se mais raros.

MOLESTIA NATURAL E EXPERIMENTAL. ANATOMIA PATHOLOGICA.

Os estudos que vamos apresentar neste capitulo da molestia, resultam de um modesto apanhado que fizemos de 37 necropsias.

Naturalmente escolhemos o que de melhor observámos para fazer obra de fé.

Poderiamos trazer para aqui mais de meia centena de verificações «post-mortem».

Questões independentes da nossa vontade obrigam-nos muita vez a exames imperfeitos e defficientes. Alias, para os que conhecem as condições de vida material nos sertões brazileiros, essas falhas não são apenas excusaveis, senão sempre previstas. E deve se dar por bem pago aquelle que vencendo a terra e o homem, consegue realizar, mesmo assim, alguma cousa de util.

Fomos obrigados a uma selecção cuidadosa das numerosas necropsias que praticámos ora muito tempo após a morte do animal, ora sem o auxilio indispensavel á realização cuidadosa desses tentames. Já igual selecção fizemos com respeito ás sementeiras dos orgãos.

As 37 necropsias são de todas as fórmas da molestia; aguda e chronicas.

E' obvio que das fórmas ou modalidades benignas nada poderemos aqui registrar.

O grande numero de necropsias despresadas, portanto, não ficou completamente perdido. Dellas poderemos colher, entretanto, dados valiosos quanto a certas lesões e certos orgãos. Em conjuncto foram abandonadas; em certos pormenores, não.

Os exames anatomo-pathologicos serão feitos sobre duplo aspecto: a) macro e b) microscopico.

a) Aspecto macroscopico das lesões.

1) Fórma aguda. O resultado da inspecção de um animal morto pela peste dos polmões varia conforme encaramos á fórma aguda ou a fórma chronica da molestia. A forma aguda, naturalmente, pela rapidez do ataque não permitte ao animal perder as reservas nutritivas accumuladas. D'ahi, sempre se apresentarem esses animaes gordos, cheios de banhas. Dir-se-iam fulminados em plena e exhuberante saude. 24, 48 ou 72 horas não bastam para desgastar, num bovideo o peso das reservas vivas. O pello apresenta-se normal e as cavidades naturaes nada denotam digno de registro. Não ha polmões ou phlegmões sub-cutaneos. Quando se abre um animal morto pela fórma agúda tem-se immediata impressão de uma molestia septicemica. Comprehende-se que não ha fócos de parasitas, senão que o organismo todo está impregnado pelo germen que o victimou. E o contraste é flagrante com o das fórmas chronicas. O tecido cellular sub-cutaneo apresenta fócos pequenos, avermelhados (fócos hemorrhagicos), ás vezes de area limitada, disseminados pelo corpo inteiro.

Estes fócos, nalguns casos, são de grande intensidade e extensão. Quando se desseca, com a pequena faca ou escalpello, um desses fócos, encontra-se sempre sangue vermelho escuro e alguma serosidade. Estas pequenas hemorrhagias, aliás, retratam, em ponto pequeno, o alto poder congestionante do parasita. Nota-se, nas regiões sub-cutaneas, edemas varios, de consistencia gelatinosa. Delles escorre uma serosidade avermelhada.

Nos casos agudos, experimentaes, ha, no local da inoculação infectuosa, ao em vez de pus espesso, cremoso, como nas fórmas chronicas da modalidade cutanea, o mesmo edema gelatinoso, já referido. E quando assim não é, nota-se no ponto da inoculação, um pus liquido avermelhado, fetido, não circumscripto. Membranas de aspecto vario traçam-se na região solapada. Esses casos são os que mais tardam no exito

lethal (4 dias para os agudos, 6, 7, 12 para os sub-agudos).

Nas mortes em 48 horas não ha siquer tempo da formação de pus. Não ha phlegmões sub-cutaneos ou intra-musculares como nas fórmas chronicas.

O sacco pericardico apresenta-se com liquido, não raro citrino, gelatinoso.

E' que nesses casos o derrame é extremamente fibrinoso. Mal retirado do sacco seroso, o restante da parte ainda liquida coagula-se em massa. Lembraria o phenomeno observado com o liquido cephalo-rachidiano humano por FROIN. O derrame é inconstante na côr e volume. A côr citrina, todavia, é a que com maior frequencia se apresenta.

O myocardio mostra-se molle flacido (consistencia de carne cosida). Cavidades cheias de sangue escuro semi-coagulado. Endocardio liso, brilhante.

Os pulmões patenteiam-se de côr vinhosa escura. A palpação demonstra consistencia dura, ausencia ou diminuição de crepitação, em vastas zonas. A superficie do córte deixa escapar com abundancia um liquido vermelho escuro, fracamente arejado. Um lobulo inteiro, muitas vezes, apresenta este aspecto. Não é raro ser o do pulmão todo.

Derrames pleuraes, de côr citrina, em fracas quantidades, já foram verificados. Na ausencia deste, ha o espessamento notavel dos folhetos parietal e visceral das serosas (Bezerro 67).

Noutros casos, além de zonas evidentes de vastissimas congestões (sem excepção nas necropsias observamos congestões pulmonares) ou hepatizações, nota-se na superficie do parenchyma pulmonar um verdadeiro pontilhado vermelho rubro, lembrando em menor escala, o pontilhado sub-cutaneo de que não ha muito falámos.

São fócos de hemorrhagias punctiformes no tecido pulmonar.

Cadeia ganglionar tracheo-bronchica não raro volumosa.

O aspecto do abdomem, antes da abertura, deixa entrever uma notavel distensão das paredes. Na maioria dos casos ha peritonite generalizada. Casos ha de peritonite purulenta generalizada. Outros de peritonite com derrame citrino abundante. As alças intestinaes distendidas pelos gazes comprimem as paredes do ventre. Num lance de vista de conjuncto percebe-se que toda a massa gastro-intestinal se acha intensamente avermelhada. Essa hyperhemia é notavel nalgumas observações.

Na peritonite purulenta (exemplo: bezerro numero 1—na serie—fórmas agúdas) vem-se, para logo que se abre o ventre, grumos de uma substancia amarellada, purulenta, viscosa, adherente á superficie dos differentes orgãos da cavidade abdominal. São fócos de puz espesso. Ha esboço de adherencias aqui e acolá. E' que o organismo, procura, no auge da lucta generalizada, circumscrever os fócos maiores tapando-lhes o caminho. Esse processo purulento é mais raro. De sete casos tira-se um, onde se encontra peritonite purulenta generalizada. Naturalmente nestes casos vêem-se processos de peri-esplenite, peri-hepatite, etc., em torno de quasi todos os orgãos abdominaes.

Examinando um por um, os orgãos da cavidade abdominal, vê-se:

Os estomagos e intestinos fortemente injectado. Apresentam-se com uma côr vermelha intensa. As superficies das mucosas tambem mostram as mesma côr. Ha forte distensão pelos gazes. Ha fezes liquidas ou semi-fluidas, escuras, fetidas, em toda a extensão do intestino.

Figado turgido, muito volumoso, com uma côr vermelha escura carregada, e consistencia molle. Ao corte apresenta uma superficie vermelha escura, de onde escorre um liquido com abundancia e da mesma côr.

Baço commumente volumoso, apresentando uma superficie de córte de côr vinhosa escura ou de borra de café, donde escorre com facilidade um li-

quido vermelho escuro. Polpa deliquescente.

Pancreas sem cousa digna de nota.

Rins raramente poupados. A's vezes, no tecido peri-renal, nota-se edema gelatinoso semelhante ao do tecido cellular sub-cutaneo e ponto de inoculação, do virus. Capsula renal destacando-se com dificuldade. Rins volumosos. Superficie de córte deixando perceber uma vasta superficie vermelha intensa, escura, sem desegualdade, donde escorre com notavel abundancia um liquido vermelho escuro. Difficilmente vêm-se as duas substancias. As vezes encontram-se nessa superficie pequenos fócos de vermelho intensissimo, arroxeados, aonde o tecido se despedaça com facilidade.

Bexiga constantemente cheia de urina liquida, amarella citrino.

2) Fórmas chronicas. Nas fórmas chronicas só nos occuparemos das modalidades graves. Vejamos a «cutanea».

Ao contrario do que vemos com os animaes mortos pela fórma agúda, aqui, os bovideos morrem num visivel estado de miseria organica. Os cadaveres de bois mortos por esta modalidade chronica apresentam-se, na maioria quasi absoluta dos casos, muito magros. A região das articulações, não raro, depara-se augmentada de volume.

A pelle do animal verifica-se crivada de abcessos de tamanho vario. Uns ulcerados; outros não. Contam-se por dezenas esses phlegmões cutaneos. E' preciso não confundil-os com as lesões provocadas pela larva da «Dermatobia hominis», o «berne». O berne quando morre e acarreta na pelle um abcesso, deixa sempre no derma o vestigio de sua passagem. São abcessos em communicação franca ou não com o exterior. Os phlegmões cutaneos provocados pela peste dos polmões (modalidade cutanea) são absolutamente fechados. Com a evolução do mal processa-se a ulceração d'alguns provocando largas aberturas para o exterior. Já descrevemos na parte clinica o aspecto do conteudo desses phlegmões ou polmões. Os polmões na maioria dos casos encontram-se fechados no interior de verdadeiras «casas». As lojas são formadas de um tecido fibroso, resistente, que limita a collecção purulenta ao tecido sub-cutaneo. Num ou noutro caso, todavia, o pus vence essa bainha protectora, solapa grandes zonas (zonas da garupa e pá) e vem apparecer em pontos distantes. Aqui como lá o pus respeita as aponevroses profundas. Raramente elle investe sobre o tecido muscular. Essas vastas zonas de pus o olhar desprevenido diria uma região edemaciada.

Nas cavidades naturaes nada se percebe digno de nota.

Quando se começa a abrir o bovideo nota-se em torno de taes polmões uma zona de infiltração mais ou menos grande. Ha em torno dos phlegmões e mesmo ao largo delles zonas de um vermelho carregado, que o escalpello mostra não deixar escapar sangue ou serosidade. Quando o polmão invade um musculo (e é o caso dos polmões na garupa ou pescoço) elle o faz como se fôra uma verdadeira pua. Da larga excavação peripherica vae-se pouco a pouco, chegando a zonas estreitas, para terminar numa verdadeira ponta. O conjuncto lembra um funil. Dir-se-ia que o musculo oppondo maior resistencia que o tecido subcutaneo, não permitte as largas formações purulentas deste. O pus, porêm, é aqui ainda guardado por uma membrana com a mesma consistencia que a do tecido cellular sub-cutaneo. Quem observa esses phlegmões intra-musculares vê que ao lado das zonas de esphacelo, de necróse propriamente, ha outras vastas, em torno daquellas, de verdadeira infiltração do musculo. São zonas vermelho vivas ao redor das casas dos polmões. Reproduz-se aqui o que vimos em torno dos polmões sub-cutaneos.

Abrindo uma zona solapada pelo pus não se encontram mais as capsulas

fibrosas. Aqui, as bainhas são as aponevróses superficiaes e profundas, e o pus tende naturalmente a se colleccionar nas partes de maior declive. Elle corroe tudo que depara em seu caminho. Esse é o motivo pelo qual vemos, nalgumas necropsias, vastissimas zonas onde toda a pelle se acha desgrudada dos tecidos sub-jacentes.

Os ganglios lymphaticos sub-cutaneos acham-se quasi sempre muito augmentados de volume, duros, rolando sob os dedos, adherentes raramente aos tecidos vizinhos. Caso ha em que a simples inspecção do cadaver revela, no desvão das costellas, ganglios consideraveis.

A inspecção interna dos cadaveres revela com alguma constancia uma polyserosite. Ha liquido, com aspecto e quantidades varias, nas diversas serosas, (pericardio, peritoneo, pleura). A multiserosite é substituida, não raro, pelo derrame de duas ou uma serosa apenas. Em ordem de frequencia vem o pericardio, peritoneo e finalmente as pleuras.

Comecemos pelo thorax. O liquido pericardio varia de hemorrhagico a amarello-citrino. O derrame raramente é volumoso. Retirado do sacco seroso, mesmo quando amarello-citrino, costuma coagular em massa (fibrinoso).

Myocardio, flacido ou não, apresenta-se quasi sempre cheio com coagulos branco-amarellados, gelatinosos. Ás vezes, na superficie do myocardio, notam-se pontos vermelho-rubros, limitados em tamanho, numero e quantidade. Outras vezes notam-se manchas brancas, leitosas recobertas ou não de deposito fibrinoso.

Os vasos sanguineos nada mostram digno de nota.

Ao derrame para as pleuras pode succeder um espessamento dos folhetos parietal e visceral destas serosas. Não vimos derrame sanguinolento.

Os pulmões apresentam-se, ora ambos, ora um unico, com uma côr vermelha escura, vinhosa. A palpação deixa-nos a impressão de um corpo resistente duro, sem crepitação. Ao córte vemos uma superficie vermelha escura, donde escorre, com abundancia, um liquido da mesma côr, não arejado. Observa-se este aspecto, ora no pulmão de alto a baixo, ora em zonas de tamanho vario.

E' digno de nota o facto de vermos muitas vezes o pulmão se assemelhar a um figado. As adherencias pleuraes não são apenas organo-parietaes, são tambem interlobares. O orgão parece um bloco unico, massiço impenetravel. Ao córte sentimos o ranger da faca de necropsia. Quando as lesões são menores vemos que, ao córte, o liquido vermelho escuro sahe misturado com quantidade variavel de ar. Aqui a palpação revela crepitação, e a cor do orgão é mais para vermelho ou roxo. E' excepcional encontrarmos associação tuberculosa. Em mais de meia centena de necropsias (a tanto montam as que fizemos) em uma unica vez registramos lesões macro e microscopicas da tuberculose (bacillo de Koch). São lesões por demais conhecidas para aqui as descrevemos.

A cadeia de ganglios lymphaticos tracheo-bronchica acha-se augmentada de volume. O parenchyma pulmonar pode, nessa modalidade da molestia, ainda apresentar, raramente, um verdadeiro «polmão». O abcesso do pulmão, comquanto pouco frequente, costuma ser duplo e apexiano. No caso do bezerro numero 400, vimos a região apexiana dos dois pulmões completamente infiltrada de pus. Ha no interior da trama do parenchyma o mesmo que vemos para os tecidos cutaneos, sub-cutaneos e musculares. Uma capsula fibrosa (vide photographias ns. 20 e 21) cérca a massa semi-liquida, granulosa e fetida do pus. O aspecto externo é de numerosas lojas de pus. A palpação dá essa mesma sensação. Verifica-se depois que o pus, sempre dentro de uma unica capsula fibrosa, se insinuou pelas vizinhanças de quasi todo um apex. Esvasiado o polmão apparece (vide phot. nº. 20)

uma collosal caverna, resultando da destruição do tecido pulmonar pelo pus.

Nesses casos o resto do orgão encontra-se quasi que completamente hepatizado. 200 ccs. de pus num e pouco menos noutro colhemos nos pulmões de um mesmo bezerro.

Estas lesões, de tamanho porte, fazem pensar que a morte por hemorrhagia pulmonar, talvez não seja rara nesses casos da molestia. Disse-nos um fazendeiro de Queimados, Curralinho (E. F. C. B.) que observou bois com hemorrhagias nasaes e buccaes (!). A' distancia, a descripção poderia lembrar o carbunculo hematico. E foi o que aconteceu. Suppusemos uma epizootia pela «bacteridia», quando se tratava da peste dos polmões.

Trachea e Bronchios apresentam-se cheios de serosidade avermelhada e não raro de pus. A superficie interna da arvore tracheo-bronchica mostra-se avermelhada.

Quando se abre a cavidade abdominal dos bovideos nessa modalidade da molestia, nota-se, mais frequentemente que nas pleuras e mesmo que no pericardio, certa quantidade de liquido.

Da massa gastro-intestinal destaca-se o engurgitamento dos ganglios do mesenterio. O intestino delgado, mais que o grosso, apresenta-se com uma côr vermelha carregada e com fezes liquidas, não raro fétidas, e escuras.

Na ordem de frequencia a extensão das lesões dos outros orgãos abdominaes, vêm, em primeiro plano, os rins, em seguida o figado e finalmente o baço.

O aspecto exterior dos rins nada denota. As capsulas renaes se destacam ora bem, ora com certa difficuldade. A superficie dos córtes nos rins mostra, quasi sempre, um aspecto vermelho intenso, donde escorre com abundancia um liquido vermelho escuro. Os loculos estão cheios ou não de urinas. A vermelhidão da superficie renal é mais intensa para a peripheria. As vezes notam-se pequenas e bem delimitadas zonas aonde o tecido renal se esphacela com facilidade e de côr escura intensa, quasi negra.

Naquelles de molestia demorada os rins pódem apresentar ainda outro aspecto ao corte: O de uma superficie molle, amarellada, nas duas zonas, quasi exangue.

Figado volumoso, turgido, com vesicula biliar cheia. Ao córte deixa ver uma superficie vinhosa escura, donde escorre com muita abundancia um liquido da mesma côr (lembra o figado de certas aves inoculadas com uma bacteria que insulamos numa das epizootias destes animaes em Bello Horizonte). O tecido hepatico esphacela-se com relativa facilidade.

Baço commummente volumoso com a superficie de córte de côr vinhosa ou de borra de café. Polpa deliquescente, deixando, todavia, ao córte, perceber as trabeculas brancas e de onde escorre com facilidade um liquido vermelho escuro.

O pancreas, a bexiga e as capsulas supra-renaes nada revelam digno de nota.

OSSO.

As lesões osseas na molestia de VRYBURG, têm por final a necrose.

O germen assentando-se, particularmente, na epiphyse dos ossos longos, evolue sorrateiramente.

Como pórêm, as lesões são, de regra juxta-articulares ou mesmo nas extremidades osseas articulares dos membros trahem-se clinicamente pelas perturbações da marcha. Ha dôr local, que difficulta ou impossibilita a marcha.

Quando o pus hernia, sob a pelle, num pequeno polmão juxta-articular, já o osso está necrosado. Nalguns casos ha formação de um caminho fistuloso— (vide photographia).

Tateando-se com tenta-canula, sente-se-lhes o percurso rugoso, irregular e duro.

Os sequestros que a gente retira desses trajectos fistulosos são pequenos, si bem que em certo numero.

Elles vêm de mistura a um pus viscoso, fétido e abundante.

Os tecidos peri-osteos circumvisinhos ás aberturas dos trajectos fistulosos são adherentes ao peri-osteo.

Este, acha-se distribuido em certa extensão.

O processo parece, primitivamente, de uma osteo-myelite suppurada. Os polmões cutaneos, filiados ás lesões osseas, quando apparecem, são tardiamente. São polmões secundarios. São o fim, não o começo.

Nem se comprehenderia que uma pequena collecção purulenta, quasi sempre insulada numa capsula resistente, provoque a necróse ossea de certa extensão.

Aliás a clinica nos mostra que, quando ainda falham os polmões cutaneos juxta-articulares, já a articulação e osso naquella região são dolorossimos (espontaneamente e provocada). A tal ponto chega essa dôr que o bovideo não póde mais caminhar.

O aspecto da medulla ossea na vizinhaça das lesões é amarello.

O exame microscopico della nada revela de anormal.

A anatomia pathologica da *modalidade intestinal,* salvo as lesões cutaneas, musculares e pulmonares, é identica á que ahi fica descripta.

As lesões cutaneas não existem ou são minimas. As lesões pulmonares são de maior vulto. Não ha abcessos.

Nota-se, porêm, uma predominancia notavel para as lesões intestinaes e glandulas proximas. Desenham-se com nitidez os vasos das paredes intestinaes. Os ganglios mesentericos estão volumosos.

O que deixa de haver nos outros orgãos existe nos intestinos. O, intestino principalmente o delgado, apresenta-se cheio de fezes sanguinolentas, ou mesmo com sangue puro ou coagulado.

Ha verdadeiras ulcerações nas paredes intestinaes. Não se percebem polmões externos ou internos. São verdadeiros casos de enterite hemorrhagica.

MODALIDADE TOXICA. Os cadaveres dos bovideos apresentam-se aqui num extremo estado de magreza. A pelle mostra-se repuchada; os ossos salientes. Aqui e além, vemos antigas cicatrizes cutaneas, onde o pello é raro e fino. Não se notam abcessos cutaneos senão excepcionalmente, mesmo assim de tamanho e numero reduzidissimo (1 ou 2 no maximo). As cavidades naturaes nada nos revelam digno de registro.

O habito interno, em conjuncto, mostra um ataque ás serosas, ora num derrame, ora num espessamento, ora numa inflammação circumscripta. O ataque é ás vezes ao pericardio, outras á pleura, ou ainda ao peritonio. Os pulmões apresentam-se sempre muito lesados. Vêm-se estes orgãos duros, resistentes, pouco arejados, de côr vinhosa escura em zonas limitadas ou inteiramente .Da superficie do córte, de côr vermelha escura, sahe um liquido, com abundancia, pouco arejado, da mesma côr.

A arvore tracheo-bronchica fica cheia de mucosidade avermelhada, espumosa.

O coração, o baço, estomagos, pancreas, bexiga etc., não raro cousa alguma macroscopicamente apresentam. O figado pode ser muito volumoso, turgido, friavel, deixando, ao córte, perceber uma superfice de côr vermelha escura, donde escorre com abundancia um liquido da mesma côr. Rins, ás vezes pequenos, duros, com superficie de córte exangue, distinguindo-se bem as duas substancias; noutras volumosos, escuros vinhosos, manchados ou não por zonas de aspecto lardaceo, de côr branco mate ou com ligeiros laivos amarellados. Estas manchas penetram até a substancia medullar

do rim. Ao córte difficilmente se distinguem as duas substancias, tal é a intensidade da côr vermelha escura que domina toda a superficie da secção. Della escorre com abundancia um liquido da mesma côr.

Os intestinos algumas vezes estão cheios de fezes liquidas, muito fétidas, vermelhas ou não (com ou sem sangue). As paredes intestinaes ficam muito injectadas, nos casos onde as fezes são sanguinolentas. Os ganglios do mesenterio mostram-se volumosos.

b) Aspectos microscopicos das lesões.

Os estudos de anatomia pathologica que executámos, fizemol-os em numerosa serie de córtes, com technicas e processos varios. Fôra inutil estar aqui a rebuscar e repisar esses escaninhos mais ou menos conhecidos da anatomia-pathologica.

Em cada caso, para cada observação ou pormenor, a «talho de foice», havemos de annotar a technica usada. Por ora, basta que digamos o seguinte: como fixadores usuaes empregamos o formol a 10 %/ e o sublimado-alcool de SCHAUDINN, e, de quando em vez, os liquidos de ZENKER e de MULLER. Como methodo de tinturaria para differenciação histologica e microbiologica: o GRAM (*), a hematoxilina-eosina, o picro-carmin indigo, e o GIEMSA com differenciação.

Examinaremos: a) A pelle.
b) Coração
c) Pulmões.
d) Figado.
e) Baço
f) Rins.
g) Gangios lymphaticos.
h) Intestinos.
j) Sangue.
k) Osso .

Pelle. As lesões da pelle nos animaes doentes, na molestia que estudamos, só apresentam interesse numa das fórmas clinicas com que se apresenta o mal: a forma chronica, modalidade cutanea.

As lesões cutaneas, ahi, assestam-se ao nivel dos «polmões.»

Na fórma aguda do mal o tecido cellular sub-cutaneo apresenta focos, de tamanho vario, hemorrhagicos. O derma e a epiderme nada nos mostram digno de registro. As rupturas dos vasos capillares podem ser vastas, dando logar a extensas suffusões sanguineas.

Quando, porêm, se examina um córte de pelle da molestia cutanea aonde se vê ao lado do tecido são—o lesado—as cousas são bem diversas. Fizemos córtes numerosos apanhando toda a margem das cavernas cavadas no tecido cutaneo (cheias de pus — eram os «polmões»). Vê-se, progressivamente, á medida que nos approximamos da séde das grandes lesões, o desapparecimento dos elementos superiores da pelle. Não é indifferente o exame da pelle num polmão fechado ou num aberto. Nos polmões fechados todas as camadas su-

(*) O methodo de GRAM serve para pesquiza dos parasitas. Empregamos a technica seguinte:

1) Corar com fuchsina de 10 minutos a meia hora.
Alcool a 30 %. . . . . 100 ccs.
Fuchsina basica 0,59
Oleo de anilina. 1,0
Acido phenico. 1,0
2) Lavar com agua.
3) Differenciar no formol a 40 %.
4) Lavar em agua.
5) Levar a uma solução saturada de acido picrico até côr amarella.
6) Lavar em agua.
7) Differenciar em alcool a 95 %.
8) Lavar em agua.
9) Corar com violeta de genciana de Stihling 5 minutos ou mais.
10) Lavar em agua.
11) Lugol.
12) Deitar fóra sem lavar e passar por uma mistura em partes iguaes de xylol e oleo de anilina, até que esse liquido não sahia mais corado.
13) Passar duas vezes no xylol e montar em balsamo.

perficiaes da pelle ficam intactas. As zonas corneas de Malpighi, as camadas elastico-musculares, até certo limite, cousa alguma denotam que revele o grave processo inflammatorio sub-cutaneo.

Nos polmões de adeantada evolução as cousas differem. As camadas de Malpighi distendendo-se e adelgaçando-se, tornam-se mesmo muito tenues. Os pellos escasseiam e desapparecem até. O processo inflammatorio invade as camadas musculo-elasticas e ahi provoca destruições notaveis. O que é interessante é ver como essa camada reage de modo a formar uma verdadeira barreira á invasão do pus.

Acompanha-se ao microscopio a barragem leucocytaria. Para além desta, ainda se percebem leucocytos esparsos, em pequeno numero, desapparecendo a infiltração á medida que nos approximamos da camada de Malpighi.

Nota-se distinctamente a zona de necrose do tecido cutaneo, esbarrando numa zona infiltrada e mais ou menos conservada de tecido musculo-elastico (capsula fibrosa de que falamos noutro logar; vide photographias numero 38, 39, e 40). Na zona de necrose propriamente dita nada ou quasi nada é possivel divisar. E' uma massa purulenta, pardacenta, (hematoxilina-eosina), granulosa. De quando em vez, no meio da massa informe, divisa-se o vestigio das fibras musculares, sem nucleo, coradas em roxo desmaiado, algumas com estriação conservada e raras fibras elasticas, profundamente modificadas. Nessa zona os proprios leucocytos encontram-se destruidos. Encontram-se microbios numerosissimos de fórma, tamanho e aspecto varios. Entre elles os bacillos com os caracteres morphologicos dos de VRYBURG. A vizada dos germes é melhor nos extremos limites da zona de necrose—em direcção á luz da caverna.

Quando se examina a zona infiltrada para fóra da necrosada, deparam-se tres ou quatro fibras musculares destruidas, no meio de outras mais ou menos conservadas. Não ha cellulas gigantes. Os vasos apresentam-se abarrotados de elementos do sangue e distendidos. A infiltração é constituida por leucocytos de vario estalão, predominando todavia os lymphocytos.

A riqueza, das zonas infiltradas, em elementos musculares (a pelle é rica desses elementos) lembra, guardadas as distancias, um córte de musculo inflammado (myite aguda).

Nos polmões ulcerados ha destruição superficial e profunda da pelle no foco da ulceração. Camada cornea, de Malpighi, pellos com bulbo, camada elastico-muscular etc. etc., tudo desapparece. Por esse orificio largo, irregular, escôa o pus do abcesso, O resto da cavidade é tapetada pela camada elastico-conjunctivo-muscular mais ou menos infiltrada, que constitue, para o bovideo, a capsula protectora contra o pus.

Coração. Os exames histo-pathologicos que praticámos, fizemol-os em varias zonas do coração. Encontrámos sempre integridade do myocardio, inclusive do feixe atrio-ventricular. Ha certa contradição entre esse asserto e o do aspecto macroscopico do coração na fórma aguda, por exemplo. Aqui o aspecto é de um myocardio bem lesado. Lembra o coração humano na peste. Uma observação maior ainda do que a nossa talvez possa esclarecer o assumpto sob o ponto de vista microscopico. Já não assim vemos as serosas que envolvem e forram o myocardio.

O pericardio pode apresentar lesões de inflammação fibrinosa e, ás vezes, de inflammação simples. Os residuos da inflammação são reconheciveis.

As lesões do endocardio verificadas eram constituidas por inflammação e hemorrhagias. As primeiras eram lesões de endocardite parietal fibrinosa, (vê-se a fibrina constituida) com mais ou menos invasão leucocytaria polymorpha. As segundas podendo coexistir com as pri-

meiras; num mesmo córte eram constituidas por pequenos fócos hemorrhagicos sub-endocardicos. Não raro, esses fócos se extendiam pelo tecido do endocardio, de um modo diffuso, não ultrapassando, todavia, as zonas proximas da união myo-endocardica.

Pulmões. De todos os tecidos do organismo dos animaes victimados pela molestia, esses são os mais constante e extensamente lesados. Dois são os grandes processos pelos quaes pode evoluir a molestia pulmonar: o processo pneumonico alveolar fibrinoso—cellular e o intersticial.

De permeio processos congestivos de extensão varia, sem as caracteristicas destes typos.

Raramente constata-se processo inflammativo agudo, purulento, do parenchyma pulmonar expresso nos abcessos.

O primeiro typo, o *processo alveolar fibrinoso cellular,* é mais agudo que chronico. Acreditamos que se estabeleça e mate o animal em pouco tempo. Lembra nos seus aspectos o da pneumonia lobar, fibrinosa ou genuina ou véra, humana. E' uma das lesões capitaes em certos casos da molestia. Nos alveolos dilatados vêm-se abundantes leucocytos, hematias, fibrina e cellulas epitheliaes. A rede de fibrina aonde se encontram presos os elementos figurados é, ás vezes, riquissima. Nalguns pontos, o tecido pulmonar parece um parenchyma compacto, tal a estratificação intra-alveolar de fibrina e cellulas. Paredes alveolares espessadas. Capillares dilatados fazem saliencia na calibre dos alveolos. Zonas ha com infiltração leucocytaria na parede dos alveolos. A especie predominante de cellulas intra-alveolares é a dos leucocytos multilobados. Vê-se, comtudo, ainda, monolobados de typo vario. Não ha cellulas gigantes. Não vimos qualquer proliferação do epithelio alveolar. E' preciso notar que o derrame de fibrina não se apresenta com igual riqueza para todos os alveolos. Os vasos de maior calibre encontram-se cheios de sangue. Num dos casos verificámos uma verdadeira apoplexia pulmonar de vasos de regular calibre, com thrombus de leucocytos quasi puros (o animal tinha 40.000 leucocytos por millimetro cubico no sangue peripherico. (Bezerro)).

Como se vê, o processo é de uma alveo'ite aguda exsudativa fibrinoso-cellular (leucocytos e cellulas epitheliaes).

Em outros casos, nos casos de lesão intersticial, os córtes do parenchyma pulmonar têm aspecto muito diverso. Lembram o processo intersticial agudo do pulmão humano. O aspecto dos córtes é caracteristico. De um lado, nalguns pontos, vemos os alveolos mais ou menos conservados, finos, delgados, vasios. De outro, alveolos com as paredes espessadissimas (duplicadas ou triplicadas no tamanho). Nesses pontos ha quasi desapparecimento da calibre do alveolo. Infiltração notavel das paredes alveolares. Infiltração leucocytaria peri-bronchica, aonde predominam os *plasmazellen.* Em torno desses fócos ha, não raro, derrame fibrino-cellular para as cavidades alveolares (leucocytos, cellulas epitheliaes, fibrina). Algumas vezes vemos o descollamento do epithelio bronchico. Noutros, proliferação delles. Apresentam-se tambem, cheios de uma massa onde divisamos epithelio e cellulas sanguineas (muitos leucocytos).

Os processos fibrinosos sub-pleuraes não são raros. Esses processos no parenchyma pulmonar acompanham-se tambem de processos inflammatorios pleuraes. São pleurites com grande espessamento da serosa, fibrinosas, ou pleurites simples sem esquecer os vestigios ou residuos das lesões inflammatorias, quando o tecido conjunctivo, vascularizado ou não, substitue de modo definitivo a estratificação inflammatoria aguda e passageira. Excusado seria descrever aqui estas lesões. Do mesmo modo as lesões de simples congestões que coexistem, não

raro, nos pulmões com os proccessos geraes que acabamos de descrever.

Já não assim os abcessos pulmonares nas lesões de aspecto pneumonico. Na anatomia pathologica humana é commum attribuir-se taes abcessos a uma etapa mais avançada das lesões pneumonicas, mórmente quando os doentes eram alcoolatras. No nosso caso, o aspecto dos polmões pulmonares lembrava o dos já descriptos na pelle dos animaes doentes. A configuração macroscopica era identica (vide A. P. macroscopica). A bainha fibro-muscular que cerca o abcesso pulmonar é formada á custa das fibras elasticas e musculares do parenchyma do orgão. Quer-nos parecer que, nesses casos, o abcesso se inicia com o processo geral do parenchyma, ou, o que talvez não seria de todo impossivel, represente uma metastase das lesões identicas cutaneas.

Nos casos de abcesso pulmonar («polmão» no pulmão, «polmão» interno) o parenchyma mostra-se profundamente lesado. A hepatização é completa em torno da collecção purulenta. Não ha á descrever um abcesso pulmonar. Diremos sómente que a zona de necrose do tecido pulmonar é extensissima. Dahi o grande tamanho da cavidade aberta no amago do orgão central da respiração.

Não falaremos nas lesões especialmente raras da associação tuberculosa bacillar, do parenchyma pulmonar. Seria repetir o que todos já estão fartos de saber.

Figado. As lesões deste orgão são de congestão. Vasos completamente cheios, inclusive os capillares. Nalguns pontos ha ruptura dos capillares (perto dos centros lobulares), espraiando-se as hematias pelos lobulos. Nas zonas onde é maior o accumulo de hematias intra capillares, os aspectos dos lobulos é o de serem constituidos por duplo cordão, alinhado, concentrico, de hematias e cellulas hepaticas. Aqui a dilatação capillar é manifesta. O aspecto geral dos lobulos é o de bem conservados. Cellulas do parenchyma com protoplasma e nucleo nitidamente corados e morphologicamente conservados. Nos pontos das pequenas rupturas esse aspecto normal se modifica, havendo perda da colorabilidade protoplasmica e nuclear. As cellulas hepaticas mal se coram. Por toda a parte os vasos e capillares regurgitam de elementos pigmentophilos. São residuos da destruição hematicas.

Capsula do figado não raro espessada.

Rins. Como os pulmões são os rins os orgãos mais intensa e vastamente lesados na molestia de VRYBURG.

Os processos geraes com que se apresentam os rins podem ser filiados a dois grupos: *agudo e chronico.*

No processo *agudo* ha sobretudo hemorrhagias. Seria a nephrite aguda «fórma congestiva de HERMANN e MOREL. São congestões mais corticaes que centraes. Todos os vasos se apresentam turgidos, cheios de sangue transvasado em certos pontos. Acompanhando estas hemorragias ha micro-abcessos estabelecidos em grande numero, principalmente nas proximidades dos corpusculos de Malpighi, fóra da capsula de Bown. Nestes fócos dominam os leucocytos multilobados, e, de uma feita, nelles encontrámos um bacillo Gram positivo, do typo descripto no capitulo «Microbiologia da molestia».

A agonia relativamente longa do animal, a que se refere aquelle exame, justifica, pela penetração dos germes do intestino na torrente circulatoria, a presença deste microbio vulgar do tecido renal. O bacillo apresenta-se no parenchyma ás vezes em cadeias com as extremidades cortadas em bizel.

O resto do parenchyma apresentaria o aspecto de uma nephrite mixta (seria uma tubulo-capsulo-glomerulo nephrite, na classificação de MALLORY), aonde por certo predominam as hematias (Ha

deposito de fibrina por toda parte, cylindros hematicos, etc.).

Nos casos de longa duração as lesões histo-pathologicas dos rins filiam-se a dois grupos.

O primeiro seria uma nephrite mixta, typo tubulo-capsulo-glomerular de MALLORY ou nephrite chronica parenchymatosa, typo hemorrhagico de KAUFMANN, ou sub-aguda, typo escarlatiniforme de HERMANN e MOREL.

O segundo seria do grupo vascular (Vascular nephritis—arterioscleme) de MALLORY ou nephrite chronica interstícial (endurecedora) de KAUFMANN e MOREL e HERMANN.

Vejamos o primeiro typo. A primeira cousa que chama a attenção é a replecção dos vasos sanguineos. Vasos cheios de sangue e dilatados. Nalguns pontos ha mesmo compressão dos tubos uriniferos, tal é o alargamento. As paredes destes vasos mostram-se espessadas. Tubuli contorti com o epithelio descamado, cheios de sangue, de cylindros hematicos e de epithelio. O resto dos tubos uriniferos cheios tambem com exsudatos, com ou sem hematias. Estas hematias ora estão insuladas, ora reunidas em cylindro no calibre do tubo. Quasi sempre mostram-se descoradas. As paredes destes tubos apresentam um epithelio com nucleo e protoplasma bem corados. Casos ha, no emtanto, onde, na luz do tubo urinifero, vemos, de permeio com uma rede de fibrina, hematias e numerosas cellulas epitheliaes, provenientes das paredes dos tubos, com o protoplasma destruido e o nucleo perfeitamente corado. Distinguem-se, noutros tubos, cylindros granulosos e epitheliaes. Nalgumas zonas, o epithelio dos tubos conserva-se no lugar. Soffre, porêm, ahi a degeneração completa, até a necrose.

Certos pontos dos córtes deixam parecer um espessamento da capsula de BOWMAN. Entre o pelotão e a capsula de alguns corpusculos de MALPIGHI via-se um exsudato aonde se percebiam algumas hematias. Não vimos nitidamente proliferação do tecido conjunctivo interstícial. Num dos casos, desse grupo, que serviu (boi D)para nossa dissertação, obtivemos a reacção da «metachromasia pela violeta de genciana». A substancia amyloide assestava-se na parede dos grossos vasos, e tecido conjunctivo dos rins.

No segundo typo, o symptoma dominante era o da proliferação conjunctiva. Reconhecia-se difficilmente o tecido renal na zona invadida. Delimitava-se exactamente a faixa de tecido de esclerose, neo-formado na camada dos corpusculos de MALPIGHI (camada peripherica). Em torno della a contextura renal estava mais ou menos conservada. Os corpusculos de MALPIGHI naquella zona eram apenas reconheciveis. Dominava-os, invadindo-os, o tecido conjunctivo néoformado. Os tubos uriniferos desappareceram. Com difficuldade se reconhecia um ou outro que escapára á devastação. Elles se apresentavam atrophiados, quasi sem luz. Não se viam pequenos vasos e tão sómente de certo calibre, com as paredes muito espessadas.

Fóra da zona esclerogenica vêm-se os tubos uriniferos de paredes adelgaçadas, muito dilatados. Epithelio com o protoplasma abrasado. Nalguns pontos o protoplasma reduzia-se a uma rede de malhas larguissimas, com nucleo mal corado, si bem que com contornos nitidos.

Baço. Algumas vezes notam-se focos de hemorrhagia na polpa esplenica. Não raro são hemorrhagias extensas, verdadeira substituição do tecido lymphoide pelas hematias. Aqui desenham-se com facilidade numerosos leucocytos pigmentophilos. Capsula sem alteração digna de registro.

Ganglios. Capsula espessas. Trabeculas conjunctivas, idem. Vasos turgidos. Ligeira hypertrophia lymphoide. Nas malhas deste tecido distinguem-se ger-

mens—coccus e diplococcus. Não ha zona de caseificação (pelo menos verificada) ou de hemorrhagias.

Intestinos. Uma das necropsias mais interessantes, aonde facilmente se patenteavam lesões para o lado deste apparelho, tivemos que abandonar, por se ter verificado microscopicamente a concomitancia da babesiose (Piroplasma bovis) e, cousa rara (pela séde exclusiva) de actinomycose intestinal.

Em muitos casos os intestinos mostram-se integros. Podemos, todavia, affirmar que nalguns outros as lesões são congestivas por excellencia, com descamação ou não do epithelio intestinal, e até mesmo destructivas da parede mucosica, e larga infiltração sub-mucosica. Villosidades com os vasos muito dilatados, cheios de fibrina e elementos figurados do sangue. Infiltração leucocytaria mononuclear, mormente para a base da villosidade.

Todos os vasos da sub-mucosa, tão dilatados que herniavam na muscularis-mucosae e na paredé do lado externo. Vasos cheios de hematias e leucocytos, uns, e outros de verdadeira rêde fibrinosa, com alguns elementos leucocytarios. O aspecto nalgumas zonas era de verdadeiro thrombus sanguineo.

A muscularis-mucosae nos pontos de compressão adelgaça-se. Ha espessamento facilmente reconhecivel na submucosa e em certos pontos infiltração leucocytaria polymorpha. Os vasos da musculosa ficam tambem dilatados e cheios de sangue.

Ha nalguns casos uma infiltração leucocytaria polymorpha generalizada, mas discreta.

Damos tres micro-photographias de córtes com um processo especial da lesão na parede intestinal.

Tratava-se da peste dos polmões, fórma mixta, com lesões pulmonares e intestinaes graves, além das lesões renaes e cutaneas.

Constituiria uma verdadeira syndrome de pneumo-enterite, cronicamente falando, com manifestações cutaneas.

Os córtes representam processos de enterite diphterica e hemorrhagica, (MACCALLUM, pg. 267 e 617, A TEXT BOOK OF PATHOLOGY, 1920) ou «enterites diphterica mortificans».

(KITT, MANUAL DE ANATOMIA PATHOLOGICA DEGLI ANIMALI DOMESTICE tradotti dal Prof. A. BALLDONI, vol. 7, pag. 60, 1906).

Duas micro-photographias representam córtes com fraco e uma com forte augmento, passando ao nivel da pseudo-membrana e zona de necrose da mucosa intestinal.

A mucosa, necrosada por placas, é substituida por uma pseudo-membrana formada de fibrina, leucocytos, hematias etc. Na zona de necrose percebe-se a ruptura de pequenos vasos. Tecido subjacente está desorganizado pela grande infiltração leucocytaria e parcial destruição dos elementos nobres.

Os grandes vasos da região estão regorgitando de sangue. Na peste bovina e na peste suina, entre outras molestias, encontram-se taes processos pathologicos intestinaes (KITT, ob. cit.).

Muscularis estriado (do esqueleto)—O estudo histo-pathologico que fizemos dos musculos estriados, executamol-os nos casos, aliás, raros, aonde o pus invadira o tecido muscular. Vimos bovideos experimentalmente infectados com taes lesões. O exame geral dos córtes mostra immediatamente um grave processo de myite com necrose do tecido muscular. Na parte central dos córtes (borda da caverna sulcada pelo pus na massa muscular) distingue-se com facilidade a zona necrosada. E' uma zona homogenea, de côr arroxeada (hematoxilina-eosina), ligeiramente granulosa nalguns pontos. Aqui distinguem-se mal alguns leucocytos, e raras fibras musculares transverso

ou longitudinalmente cortadas, de contornos imprecisos, de côr roxo clara, sem nucleo, com estriação dupla ás vezes conservada. Este aspecto e côr das fibras modificam-se á medida que nos afastamos da zona de necróse. Dahi o vermos fibras com protoplasma de côr rosea desmaiada, contornos precisos, nucleos fracamente coraveis, e por fim fibras com protoplasma vermelho claro, nucleo perfeitamente coravel, contornos nitidos, e estriação dupla sem a menor alteração. De mistura vemos numerosissimos microbios.

O pus do abcesso muscular tem, pois, o componente de fibras musculares despedaçadas. Afastando-nos dos bordos da caverna deparamos com um processo classico de myite. Ha infiltração lymphocytaria notavel, que se attenua á medida que nos distanciamos da zona destruida. A infiltração é constituida, na maioria, pelos pequenos lymphocytos. Vasos abarrotados de sangue.

Sangue. A histo-pathologia do sangue foi feita noutro logar. (vide clinica).

Osso. A technica empregada para o exame microscopico deste tecido foi o commum de descalcificação, inclusão em paraffina córtes e colorações pelo GIEMSA, hematoxilina-eosina, GRAM, etc.

Verificámos uma rarefação do tecido osseo. Nota-se um adelgaçamento das trabeculas osseas. Este estado de cousas accentua-se até á beira da zona necrosada, na qual vemos fragmentos de trabeculas osseas de permeio a uma massa uniforme, granulosa, purulenta. Todo tecido nobre acha-se cercado pelo pus.

Nessa massa distingue-se particularmente abundante, o «Diplococcus polmonis b».

Todo o tecido nobre é cercado pelo pus.

Na parte poupada, os osteoplastas e os canaes do HAVERS apresentam-se bem conservados. Não ha vestigios, porêm, desses elementos nos micro-fragmentos osseos que se divisam ilhados pelo pus.

ETIOPATHOGENIA.

A exposição que vimos fazendo do nosso trabalho, dispensa, acreditamos neste capitulo pormenorizada demonstração.

Faremos todavia as considerações que nos suggerem os factos revelados.

A peste dos polmões, nas suas variadas fórmas clinicas, é produzida por um unico e mesmo germen—um virus filtravel, associado, consoante áquellas fórmas, a microbios varios. Queremos com isto dizer que o germen etiologico da molestia atravessa as velas communs, empregadas para tal mister nos laboratorios.

Os bacillos do typo VRYBURG, nalguns surtos epizooticos, são encontrados com grande frequencia nas lesões animaes. Nestes surtos elles predominam sob todos os outros germens visiveis. Noutros elle pode faltar.

Essa associação desuniforme, expressa-se tambem por manifestações clinicas variaveis. Foi necessaria uma longa observação e aprendizagem, em muitas dezenas de casos morbidos, provocados ou não, para que nos fosse possivel chegar á presente unidade.

Nossa primeira idea foi attribuir aos bacillos do typo VRYBURG a causa etiologica do mal. Durante muito tempo forcejámos neste terreno. Ao depois, deante do insuccesso dos nossos tentamens, suppuzemos tratar-se talvez, de um germe semelhante ao da molestia de SORILLON. Os cogumelos, ultimamente, têm sido nosso assumpto predilecto. A pathologia comparada nos ensinava que seria uma excepção, um mal de tamanha extensão e variedade pertencer ao grupo dos cogumelos.

Panzootias ou pandemias são devastações de cuja responsabilidade têm o apanagio as Bacterias e os Protozoarios. As chamadas «epidemias» que vemos, por um certo exaggero, consagradas ao capitulo de certas mycoses são mesmo assim muito limitadas.

Não desejavamos partir, porêm, com ideas preconcebidas. Aprofundámos nossos conhecimentos sobre a molestia, ainda sob o ponto de vista de ARIZOPHITOS.

Só após a evidencia posterior, inconteste, dos factos de observação e experiencias, abandonamos as velhas trilhas, e deixamo-nos levar ao sabor das novas e, ao que parece, verdadeiras.

E não nos arrependemos. Os bacillos com o typo que VRYBURG descreveu, em Deli, encontram-se com alguma constancia no pus dos polmões.

Elles não se encontram, todavia, nem em todos os casos, nem puro nas lesões fechadas. Ao demais, em rigor não nos foi possivel fechar o cyclo de PASTEUR.

Elles são tambem, não ha duvida, pathogenicos para muitos animaes, inclusive bezerros.

Não é possivel com elles, porêm, reproduzir a peste dos polmões.

A microbiologia, aliás, é bastante rica nesses exemplares para que nos possamos ainda illudir.

O estreptococcus é um commensal das pustulas variolosas. E' ás vezes o unico microbio que lá deparamos. Elle é pathogenico para o homem e os animaes. O causador da variola é um germen diverso. O bacillo de PFEIFFER acompanha com maior ou menor frequencia os grippados. O agente etiologico da grippe é um virus filtravel.

As Pasteurellas encontram-se num sem numero de molestias animaes, nalgumas das quaes está hoje bem provada a etiologia outra da molestia.

Quem abrisse, annos atraz, uma das antigas edições dos tratados de microbiologia (ainda os melhores) no capitulo de peste dos porcos, não teria a menor duvida em attribuir ao bacillo do hog-cholera a causa etiologica desta molestia.

Não faltaria, siquer, o cyclo de PASTEUR.

Este bacillo deve mesmo servir de exemplo aos pesquizadores. Elle nos mostrou como muita vez todas as apparencias illudem e nos podem levar a erro numa experiencia sem certos cuidados.

Mestres da technica nelle trabalharam. Seu poder pathogenico para os animaes (porcos principalmente) era um facto (42, 43, 44, 45).

Nos orgãos, no sangue nos exsudatos o bacillo enxameava. Fechara-se, apparentemente, o cyclo de PASTEUR. O bacillo do hog-cholera não é, comtudo, o causador da peste dos porcos. O monumental trabalho de UHLENHUTH, HUEBNER, XYLANDER, e BOHTZ, em 1908, desfez toda duvida a esse respeito (46).

Grande numero de germes espiralados acompanha o *Treponema pallidum* nas lesões syphiliticas. Não nos alonguemos em citações. Teriamos de percorrer quasi todas as molestias humanas e animaes. As reacções biologicas— agglutinações, fixações do complemento etc., tambem devem ser incluidas entre os argumentos de prova, nunca porêm, como pathognomonicos da especificidade de um microbio para uma determinada entidade morbida. Mesmo porque ainda está para apparecer em biologia um signal pathognomonico.

Obtivemos com os bacillos do typo VRYBURG agglutinações, que, num caso, atingiram a 1/1280, fracamente (Obs. nº. 35) pelo sôro do animal doente. Assignalaremos que as testemunhas, com o sôro de bois normaes, agglutinaram a 1/640, na mesma occasião, fortemente. O bacillo desse caso fôra insulado de uma lesão aberta. As agglutininas, como qualquer outro anti-corpo contra um dado microbio, podem se formar em todo organismo sob cujos tecidos viva este microbio.

Entre os cogumelos, ha exemplo de simples presença saprophytica de certa levedura na garganta de um individuo

(facto banal, mormente entre os tuberculosos) provocar a producção, no sôro desse sujeito, de agglutininas especificas para essa levedura e coagglutininas para outros cogumelos. Ainda recentemente (47, 48, 49, 50), e acreditamos que até agora, servia como unico talvez, e melhor, sem duvida, elemento para o diagnostico microbiologico do typho exanthematico a agglutinação do PROTEUS X. 19, bacillo colhido da urina humana dos doentes com aquella molestia, com o sôro dos individuos suspeitos. O proteus X. 19. não é pathogenico para o homem, e, muito menos, agente etiologico da molestia. Este typo de reacção é muito interessante e cheio de ensinamentos. No 2º dia de molestia já ha agglutinação.

Verifica-se uma agglutinação a 1/50.000 desses bacillos com o sôro dos doentes no decimo (10º) dia da evolução do mal. (Essa agglutinação passou para a medicina com o titulo de reacção de WEIL-FELIX.). Acreditamos que, salvo rarissimas excepções, só com sôros de certos animaes (não é qualquer cavallo ou boi que, mesmo com as melhores condições da technica, chega a fornecer um sôro com tal poder agglutinante,) hyperimmunizados contra determinados microbios, é possivel obter tão alto titulo agglutinante. Deante de tão expressivo exemplo dispensando-nos de citar outros, o do bacillo de PFEIFFER, o de SANARELLI, etc. etc. Diremos apenas que alguns trabalhos (não todos, felizmente) mostraram que é possivel obter fracas agglutinações com o sôro de grippados e o primeiro desses bacillos.

Devemos, pois, completar a phrase acima enunciada — «agglutininas, como qualquer outro anti-corpo etc». dizendo: «sobre cujos tecidos vivam os referidos microbios PATHOLOGICA ou SAPROPHYTICAMENTE».

As agglutininas aliás, não têm já aquelle decidido papel na immunidade que lhes outorgaram outr'ora. «A immunidade adquirida é independente da quantidade de anticorpo no sôro» disse recentemente BESREDKA, num trabalho muito interessante sobre a questão (51).

O virus da peste dos polmões encontra-se, nos animaes doentes, no amago das visceras e no pus sempre, e, mais raramente, no sangue circulante. As inoculações do pus, dada sua constante espessura, só raramente podem ser feitas com o material em natureza.

A technica seguida consistia em diluir a massa purulenta em sôro physiologico previamente esterilizado, para depois proceder á inoculação. As vias para as injecções infectantes foram multiplas: sub-cutanea, (mais commumente empregada) intra-muscular, intra-venosa, epidermica e digestiva. As duas primeiras devem ser preferidas para taes inoculações. Naturalmente, não insistimos na via intra-venosa pelos accidentes mechanicos ou mesmo toxicos que a injecção de pus pode acarretar immediatamente após a inoculação. Isso prejudicaria o modo de ver em que nos collocaremos: isto é, reproduzir, «ipsis litteris virgulisque quoque», a molestia.

Acreditamos mesmo agora, após nossas experiencias, que a via sanguinea não é a melhor para a inoculação do virus da peste dos polmões, com o intuito de reproduzir a molestia. Em 100 inoculações de pus, vias sub-cutaneas e intra-musculares, em bezerros, 93 são positivas. (vide graphicos nrs. 12, 55, 24, 22, 23, e 86).

Os 5 % restantes correm por conta da resistencia individual, de ataques anteriores ignorados, ou da insufficiencia do virus inoculado. (vide graphico nº. 9). O pus fornece-nos tambem resultados assignalaveis quando inoculado sob a pelle dos coelhos e cobayas. As inoculações em porcos (bacoros) são menos brilhantes. Nos coelhos elle reproduz com maior intensidade a syndrome que descrevemos com a inoculação dos ba-

cillos do typo VRYBURG. E' assim que vemos edema consideravel, e, após abcesso no ponto da inoculação, infiltração peri-abcesso extensa. O abcesso pode se revestir de todos os caracteres dos polmões. Elle torna-se ás vezes muito volumoso. Ha ulceração da parede do ventre na região da inoculação. Os ganglios apresentam-se enfartados. A morte effectua-se pelo 5º ou 7º dia. As necropsias revelam derrame para as serosas (multi-serosite), e, não raro, peritonite purulenta. Ha congestões em todas as visceras. Dellas reinsulamos os germes já referidos, inclusive os bacillos com o typo de VRYBURG. Nos porcos da India a acção é menos violenta, si bem que haja formação do tumor e morte num curto espaço de tempo. Os bacoros são tambem sensiveis ás inoculações do pus virulento. Formam-se abcessos, que se conservam ora fechados, duros, ora se ulceram deixando escapar um pus fetido, viscoso, amarellado. 10 ou 12 dias após podem morrer os leitões, após ter apresentado magreza, adynamia. Os animaes podem apresentar metastases purulentas, e, ás vezes, hemorrhagicas.

A necropsia revela derrame para o pericardio, congestões renaes, hepaticas.

Podem haver nephrites purulentas. Pela via sub-cutanea, obtêm-se todas as fórmas da molestia: agudas e chronicas com todos os caracteristicos, já descriptos.

As vias digestivas e epidermicas não deram resultado algum. Quantidades consideraveis de pus virulento ingeridos pela via gastrica, por um bezerro sensivel (verificado, posteriormente, pela inoculação sub-cutanea de pus, contrahir então a molestia) resultado algum trazia. Raspando com uma navalha o dorso de um bezerro sensivel, (Verificado, posteriormente, pela inoculação, positiva, via sub-cutanea, de pus virulento), após conveniente epilação, até que occorressem ligeiras escoriações, esfregavamos o pus recentemente colhido nessa superficie cutanea ligeiramente lesada (methodo que tão bons resultados fornece na reproducção experimental da peste humana). Os resultados aqui ainda eram negativos.

O pus não é por outro lado um eterno reservatorio de virus. Ha periodos nos quaes todas as vias são más para reproducção da molestia com o pus. E' que o virus já desappareceu desse material. Nelle todavia ainda encontrámos com vida os microbios a que atraz nos referimos, inclusive os bacillos do typo VRYBURG.

O boi D, que se apresentou com a fórma chronica, modalidade cutanea, grave, vae nos servir para demonstrar este asserto. No começo a virulencia do pus era inconteste. Ao depois desappareceu. Inoculavamos grandes quantidades de pus desse boi na veia e debaixo da pelle de bezerros sensiveis, sem qualquer fimbria de resultado positivo. As sementeiras desse pus, nos meios communs de laboratorio, fornecia-nos ainda culturas positivas dos germen a que atraz nos referimos, inclusive de bacillos com o typo VRYBURG. Obtinhamos abcessos localizados, não a peste dos polmões, nesses casos. Era mais uma prova ao encontro da hypothese que presuppõe os bacillos com o typo VRYBURG como sendo agentes etiologicos da molestia aqui estudada. Não apenas destes bacillos senão tambem todos os germes visiveis, cultivaveis, encontrados no pus dos animaes feridos pela molestia, ficavam desta maneira afastados. Essas experiencias vinham confirmar tambem aquillo que a observação annotára, isto é, que o contagio directo numa baia, sem carrapatos, pela simples convivencia, para com um bezerro sadio, não se processa, salvo, talvez, nos casos de localização intestinal do virus. Não importa que essa convivencia seja com animaes atacados pelas fórmas chronicas, modalidades cutaneas, ulceradas e toxica. Si ha contagio por essa simples conviven-

cia, elle é muito discreto. Não o conseguimos pela experimentação. Foram mesmo essas experiencias negativas que nos levaram a procurar, fóra do animal, o meio de transmissão da molestia.

O triturado das visceras (coração, figado, baço, rins, e polmões) tanto como o pus é um material seguramente capaz de infectar um bezerro sadio, reproduzindo a molestia (Vide graphico ns. 62, 67, 70). As fezes reproduzem a fórma intestinal.

Não será isso para admirar, uma vez como já sabemos que os orgãos internos apresentam lesões vastas decorrentes da molestia. Havia muita probabilidade de serem estes orgãos portadores do germen. Com as inoculações do sangue as cousas são differentes. De 100 inoculações de sangue, colhido em pleno periodo de evolução da molestia febril, 34 são positivas.

Não sabemos si uma observação e experiencias mais prolongadas poderão modificar esse asserto. O bezerro nº. 38 (vide tambem o nº. 75), inoculado com sangue desfibrinado de outro com a molestia natural, fórma chronica, modalidade cutanea, morreu com a fórma chronica, modalidade toxica. Não ha grandes differenças (para não dizer nenhuma) entre as inoculações de sangue desfibrinado ou em natureza.

Naturalmente, desde que a desfibrinação obedeça ás regras da technica, ha até vantagens nesta ultima operação.

Deve-se injectar quantidade regular de sangue para um melhor resultado.

Os animaes sadios collocados em contacto com os doentes, em baias perfeitamente limpas, durante largo tempo, não contrahiam a molestia. (observação prolongada posteriormente). Si o contagio directo nas cocheiras limpas é difficil, elle é facilimo nos campos. Porque? A panzootia de 1919 esclareceu muitos pontos do problema. Já vimos que das vias de inoculação do virus uma das melhores é a sub-cutanea. A transmissão pelas vias digestivas e epidermicas é difficil ou talvez impossivel pelo menos em certas modalidades da molestia. O virus existe no pus, visceras e sangue e nas fezes. A ulceração dos polmões, e consequente extravasamento de pus infectante e, porêm, tardia.

Essa ulceração é mesmo o apanagio dos estados adeantados da molestia. Seria portanto um meio pouco rapido para a transmissão do microbio. Ora, o ataque pelo mal é simultaneo em numerosos animaes num rebanho. Esse processo de transmissão pelo pus extravazado dos polmões ulcerados, não é muito plausivel ainda pelo seguinte. Um pus anteriormente virulento, perde, rapidamente, na glycerina seu poder infectante. Em 15 dias essa propriedade pode descer a zero. Esta é a regra para muitos virus filtraveis. O virus é, pois, fraco. Verdade é que já acontece o mesmo com o pus deseccado e fezes, nas condições do laboratorio.

Serão as mesmas que as dos campos? As perdas sanguineas não foram registradas, pelo menos com frequencia, na polmoeira. Tão pouco com frequencia, na sidades e sangue pelas ventas. As lesões do apparelho respiratorio são aliás resultantes da evolução posterior do mal no bovideo. São consequencias tardias da molestia. Foi por tudo isso que fomos procurar fóra do organismo animal um hospedeiro capaz de transmittir aos bovideos a molestia, garantindo a perpetuação da especie microbiana. Encontramo-lo nos carrapatos (52, 53, 54).

Estudando os carrapatos, na zona infectada, encontramos: na super-familia dos IXODOIDEA, sub-familia dos IXODINAE, familia ARGASIDAE, genero ARGAS (LATREILLE, 1796) a especie PERSICUS, habitando os gallinheiros e não parasitado pelos espirochetas; na familia dos IXODIDAE, genero BOOPHILUS, (CURTISS 1890), a especie MICROPLUS a maioria parasitando os bovideos; na mesma familia, genero RHIPICEPHA-

LUS (C. L. KOCH 1884) a especie SANGUINEUS, tambem parasitando os bovideos; na mesma familia, genero AMBLYOMMA (C. L. KOCH 1844), a especie CAJENNENSE, tambem sobre os bovideos.

Conseguimos provar que os carrapatos mais communs nos campos da região mineira aonde grassou a peste dos polmões são infectantes para os bois sadios. São capazes de conter o virus desta molestia. (*Amblyoma cajennense* e *Boophilus microplus*). Não iremos repetir aqui a biologia desses carrapatos.

Nossas experiencias sobre o assumpto ainda continuam, e de esperar é que continuem por muito tempo até o completo esclarecimento do assumpto.

Ahi ficam, porêm, alguns dados.

Apanhando-se aquelles carrapatos sobre um bovideo doente, triturando-os num gral, com sôro physiologico (gral, e sôro, previamente esterilizados, seria ocioso dizer) reproduz-se seguramente a molestia, inoculando esta emulsão sob a pelle de um bezerro sadio. Estas experiencias deveriam se revestir de muita cautela para evitar interpretações erroneas ou de má fé.

E' o caso, que as inoculações de triturados de carrapatos poderiam vehicular outras molestias enzooticas em nossos campos e capazes tambem de provocar a morte.

Escolhiamos por isso bezerros nacionaes, nados e criados em nossa terra, no maximo com 1 anno de idade. Eram bezerros que viviam nas pastagens sem a menor cautela. Longo tempo permaneciam no laboratorio para observação, antes da inoculação.

Verificámos as emulsões de carrapatos com respeito a microbios varios. Os germes daqui insulados eram identificados. Realizámos a prova, ao nosso ver, suprema de filtrar em velas BERKEFELD essas emulsões e reproduzir, com esses filtrados, a molestia. As inoculações foram positivas em 99 % dos casos.

O grande interesse dessas verificações, é o dos symptomas revelados pelos animaes inoculados. Os bezerros moriam com manifestações claras da peste dos polmões.

O tempo de duração foi, para a maioria, o commum da molestia natural. Uns morreram com a modalidade cutanea, outros com a toxica, etc.

O laudo das necropsias, os graphicos thermicos, as photographias juntas a esse trabalho são bem mais expressivas que qualquer pormenorizada explicação.

Elles comfirmam quanto acabamos de assegurar. Vejamos, por exemplo, parte do graphico do boi nº. 14. Apenas a mais eloquente. Esse animal contrahiu a molestia typica e della morreu com 48 dias de evolução.

Após certo periodo de imcubação a temperatura elevou-se, e assim se manteve durante muitos dias. Apresentou as oscillações caracteristicas, e baixou gradativamente até á normal, 5 dias antes da morte desceu abaixo da normal. O bezerro apresentou polmões typicos, magreza, falta de fome. A necropsia revelou derrame para as serosas, congestões pulmonares, etc. Foi do pus dos polmões deste bezerro, que insulamos, além do «Diplococcus pulmonis» e um bacillo GRAM-positivo, o bacillo do typo VRYBURG que mais alto titulo de agglutinação nos forneceu. Este bacillo foi agglutinado pelo sôro do bezerro Nº. 14 (o sôro do proprio animal donde elle foi insulado) a 1/640, e a 1/640 pelo sôro de boi, normaes.

Agglutinou ainda, com o sôro de boi de onde provieram os carrapatos com os quaes inoculamos o bezerro Nº. 14, a 1/1280.

Este bacillo mostrou-se avirulento para os bezerros sadios. Um garrote supportou, impunemente, 20 cc. de emulsão, em sôro physiologico, dos ger-

mes que se multiplicaram durante 24 horas na estufa a 37° C. num tubo de agar-agar inclinado. Elle era capaz, todavia, de reproduzir no coelho o syndromo classico já descripto. O pus destes polmões era infectuoso. Reproduzimos, em coelhos, inoculando pequenas quantidades deste pus, o quadro tambem já descripto paginas atraz.

O sôro do bezerro n°, 14 agglutinou ainda a 1/160 um bacillo, suspeito, (sem ter, comtudo, os caracteres dos do typo VRYBURG) insulado do triturado dos carrapatos infectantes.

O bezerro n°. 61 é outro exemplo typico da reproducção experimental da molestia pela inoculação do triturado de carrapatos (vide graphicos e photographia).

Este animal teve a peste com todos os caracteres da molestia chronica, modalidade cutanea. Polmões typicos, magreza, febre, diarrhéa, inchaço nas articulações dos membros, etc. etc. Mais, muito mais interessante que esses todos é o caso do bezerro n°. 59, inoculado com FILTRADO EM VELA BERKEFELD do triturado de carrapatos suspeitos, colhidos sobre o bezerro n°. 56 (fórma chronica, modalidade cutanea, natural). Após um curto periodo de incubação a febre ascendeu á cumiada do traçado (41°C. e 9 decimos). O animal emmagreceu apresentou polmões typicos (vide photographia n°. 6) disseminados pelo corpo.

Fizemos analyse dos triturados de carrapatos infectantes respeito toda casta de microbios que por acaso podessem conter.

O exame directo desses triturados, em esfregaços pelo GIEMSA, GRAM, etc, revela-nos microbios varios, coccus, bacillos, elementos evidentemente pertencentes a cogumelos etc. As pesquizas com sementeiras forneceu-nos o seguinte:

3) 1 bacillo .....
- GRAM negativo.
- Muito movel.
- Maior que os do typo VRYBURG.
- Coloração bi-polar.

Coccus.....
- Staphylococcus.
- Diplococcus.

2) 1 bacillo.....
- GRAM negativo.
- Vacuolado.
- Ligeiramente movel? (movimentos de lateralidade?)

Estes dous bacillos não foram agglutinados pelos sôros dos doentes.

O sôro normal de boi agglutinou até 1/80 o segundo desses bacillos.

As culturas do bacillo que chamaremos—2—eram pequenas, translucidas, desenvolvendo-se fracamente em 48 horas na estufa a 37°C.

O bacillo que chamaremos—3—não era pathogenico para os bezerros, não agglutinou com os sôros dos animaes doentes, e era pathogenico para os coelhos nos quaes reproduzia a syndrome semelhante a dos bacillos com o typo VRYBURG.

Eis alguns caracteres de culturas deste bacillo:

Batata..... Cultura brilhante branca, mate, espessa, abundante, turvando bastante a agua do tubo (48 horas).

Leite..... Coagulado, fetido em 48 horas.

Sabouraud	Abundante, fetida, branca suja, em 48 horas.
Caldo	Turvo por egual, fetido, pellicula espessa na superfice em 48 horas.
Sôro de cavallo coagulado.	Cultura abundante, branca suja, fetida, O sôro é dissolvido em 48 horas.
Meio de Endo	Envermelhece o meio em 48 horas.
Gelatina	Dissolve em 21 horas. Em 21 dias todo o tubo se encontra dissolvido.
Agua peptonada	Desenvolve-se com abundancia. Turvo por egual o meio.
Indol	Positivo com 15 dias de desenvolvimento.

O tempo de duração do poder infectuoso dos carrapatos é limitado.

Com 72 horas, do momento da colheita, conservados no laboratorio, na temperatura media de 28ºC., ainda conseguimos, triturando-os, emulsionando-os em sôro physiologico esterilizado, inoculando-os em bezerros sadios, reproduzir a molestia.

Com 15 dias de estadia no laboratorio isso torna-se impossivel. Não ha evolução do germen no hospedeiro intermediario. Immediatamente após a colheita sobre o animal doente, elles são infectantes para os sadios.

As larvas provenientes dos carrapatos infectantes não são capazes de reproduzir a molestia. Será que essas larvas, criadas fóra do meio contaminante, (com sangue de coelhos, por exemplo) em chegando o periodo de adultos tornam-se infectantes? E' um ponto que ainda precisa ser esclarecido.

O desapparecimento da epizootia obrigou-nos a suspendar as experiencias que encontrámos para o pleno conhecimento do assumpto.

IMMUNIDADE.

E' um capitulo ainda não explorado como o deveria ser. A vastidão do assumpto que abordámos e a urgencia do tempo para attender a outros capitulos, justificarão as falhas que nelle se encontram.

E' possivel que mais tarde, com mais vagar, muita cousa ainda possa ser trazida a luz da publicidade. Ha todavia, alguns dados que já podem ficar.

Parece-nos que não existe immunidade natural para a molestia, senão em casos bastantes raros. Quando iniciámos nossos estudos sobre o assumpto, nossa opinião era a corrente sobre a questão, isto é, que a molestia era exclusiva dos bezerros.

Os animaes adultos teriam uma apreciavel immunidade contra a molestia.

Verificámos que isso não é exacto. A panzootia de 1919 forneceu-nos provas positivas do contrario. Ao depois nossa observação só veio corroborar este asserto.

A peste dos polmões não respeita a edade, o sexo, e sequer a raça.

Desde o bezerro recem-nascido até o velho boi de carro, largo, musculoso, formidavel, a todos o mal vergasta, prostando na mesma extrema magreza e morte.

As vaccas leiteiras e os bois para o córte são egualmente victimados.

Os CARACÚS, os SERTANEJOS, os HEREFORDS, os HOLLANDEZES etc., até os bois ZEBÚS, sem distincções de

raças, o virus prosta e mata. Fóra das panzootias poderia parecer que a molestia tinha predilecção para os bezerros.

Ha apenas uma illusão. Em primeiro logar, quando se pesquiza bem nos focos da molestia, mesmo fóra, já não dizemos de panzootias, de simples epizootias encontram-se bois portadores de fórmas mais ou menos disfarçadas da molestia. Em segundo logar, os bois de uma fazenda, de regra, já soffreram um ataque do mal quando bezerros ou já garrotes. Esses fustigos do virus quando não matam, deixam uma immunidade duradoira. Naturalmente as levas que nascem todos os annos são, mormente nas fazendas aonde a industria do leite predomina, aonde ha pouca mudança no gado adulto, as preferidas apparentemente pela molestia.

A questão das forragens tambem não pode ser levada em linha de conta na molestia.

Bastaria, para cortar a questão, citar o caso do ataque pela molestia á fazenda de S. Alda, de propriedade do Dr. JOÃO TEIXEIRA SOARES. A alimentação alli é o que pode haver de melhor, não apenas em quantidade senão tambem em qualidade.

Noutras regiões verificámos tambem que por egual eram accommettidos os bois de campo como os de curral. Os que conhecem um pouco dos nossos costumes sabem que, os primeiros, vivem nos latifundios, sem o menor tratamento. Os proprietarios mal os conheciam pelas historias dos campeiros. Os segundos, não. Vivem nas proximidades das fazendas, e todas as tardes são recolhidos as curraes, para comerem as rações de sal, ou de sal e milho, ou ainda de fubá e canna. São, de regra, bois para a tracção dos carros (bois de carro).

Nas nossas experiencias verificámos aliás isso que ahi fica dito. Nossos bois ou bezerros eram alimentados com farello, milho e capim escolhido.

Apezar de tudo isso, quando as inoculações eram sufficientes e virulentas, de cousa alguma valia farta e escolhida alimentação.

Um primeiro ataque do mal, quando não mata, deixa uma immunidade duradora e solida.

As inoculações de filtrados, em velas BERKEFELD, em bezerros sadios, seguidos de reacções febris preservam esses animaes de uma posterior reinoculação de pus ou triturado de carrapatos, virulentos (vide graphico N°. 55).

As inoculações de bacillos do typo VRYBURG, ainda quando provoquem pequenos abcessos, não immunizam os bezerros contra uma posterior inoculação virulenta de pus, por exemplo.

A ingestão de grandes quantidades de pus virulento, não confere immunidade aos animaes. O sôro preparado com os bacillos do typo VRYBURG tem acção minima sobre a peste dos polmões. O sôro preparado com injecções intra-venosas de pus diluido, triturado de visceras e de carrapatos, de animaes natural ou experimentalmente doentes, tem decisiva acção benefica sobre a marcha da molestia.

As altitudes não influem na disseminação do mal. Nas baixadas ou chapadões são por egual accommettidos os animaes. Não desejamos porêm, silenciar sobre o que colhemos num dos focos da ultima panzootia.

Os proprietarios uruguayos das fazendas que margeam o rio Curumatahy, e que se extendem sobre a Serra do Cabral, entre as estações de Beltrão e Francisco Sá, na Estrada de Ferro Central do Brasil e seu ramal a Buenopolis (a 1.000 e poucos metros acima do mar, no Estado de Minas) informaram-nos que, na panzootia de 19, o gado recolhido ás fazendas no topo da serrania passou incolume sobre o vendaval devas-

tador. Os animaes recolhidos ás fraldas da grande serra ou nas planicies que a margeam morreram todos. Informaram-nos que os carrapatos não são abundantes no alto da montanha. O pasto é sempre verde, si bem que nativo e pouco alimenticio. As aguadas são abundantissimas. Esse informe para aqui o transladamos pela fonte de onde emanam. Os creadores das fazendas a que nos referimos são muito adeantados e senhores de grandes rebanhos.

E' bom todavia annotar ser a molestia conhecida nos planaltos do Estado do Paraná.

DIAGNOSTICO.

O diagnostico da peste dos polmões reveste-se de uma certa facilidade apenas numa das modalidades da fórma chronica da molestia—a cutanea.

Na fórma aguda do mal o diagnostico é muito difficil. No periodo das epizootias, pelos commemorativos do caso, ainda é possivel orientar o experimentador.

As inoculações posteriores muitas vezes esclarecem a questão.

O historico morbido de cada caso com a fórma aguda é apagado. A rapidez da evolução do mal impede ao observador colher informes sufficientes. Elle tactea nas trevas de multiplas suppposições, até que as necropsias, os exames anatomo-pathologicos macro e microscopicos, e a experimentação afastam o carbunculo symptomatico e bacteridiano, a piroplasmose, a raiva, etc.

A mesma difficuldade topamos para o diagnostico das fórmas chronicas, benignas.

Aqui todavia, o apparecimento de um raro polmão póde esbater de uma luz nova o diagnostico do caso em observação. E o diagnostico se firma.

Das fórmas chronicas graves a de mais facil diagnostico, já o dissemos, é a modalidade cutanea. Quem já uma vez viu um bovideo atacado por essa molestia chronica, nunca mais o esquece. As photographias e as descripções que para traz deixámos são bastantes para dispensar novas explicações.

O exame do pus é importante para o diagnostico differencial principalmente.

O pus para esse diagnostico deve ser colhido dos polmões fechados com todos as cautelas possiveis (raspagens do pello, pincelagens com tintura de iodo, etc. etc.).

A colheita pode ser feita com uma seringa esterilizada. Preferimos sempre para essa operação pipetas estiradas, préviamente submettidas á acção do autoclave na temperatura de 120°C. durante 20 minutos.

Faziamos um exame directo, em esfregaços finos, corados pelo GIEMSA, GRAM, LEISHMAN, Fuchsina simples, TRIBONDEAU-FONTANA, ZIEHL-NIELSEN, etc.

Ao depois procediamos a inoculações diversas (cobayas e coelhos).

O exame do pus, pelos esfregaços, mostra-nos que esse material mesmo encerrado sob a pelle dentro de uma espessa bainha fibrosa, jamais é um pus sem microbios.

Não encontrámos bacillos acido-resistentes, nem elementos typicos de farcino de que fala NOCARD. Algumas vezes, elementos bacilliformes que filiámos ao typo de estreptotrix descripto na parte de microbiologia da molestia,

Não encontrámos tão pouco o bacillo de LIGNIERES e SPITZ., com seu aspecto caracteristico, semelhante aos actinomyces.

Toda pesquiza de protozoario nesses esfregaços dá resultados negativos.

Não ha predominancia, de regra, para um determinado microbio.

Topámos germens GRAM-positivos e negativos; bacillos e coccus de tamanho e aspectos varios. As culturas determinam a especie desses microbios.

O pus é rico em leucocytos polynucleares neutrophilos. O exame para a contagem dos leucocytos no pus dos polmões é penoso. Mesmo nos tumores recentes ha como que uma «leucolyse» intensa.

E' difficil, quasi sempre, reconhecermos nos esfregaços a especie do globulo branco.

Pudemos no emtanto chegar a estabelecer a seguinte formula para o pus:

NEUTROPHILOS.	77	%
PEQUENOS LYMPHOCYTOS. .	2	%
GRANDES LYMPHOCYTOS. .	18	%
FORMAS DE TRANSIÇÃO. . . .	3	%

Uma das melhores colorações para os esfregaços de pus é a pelo GRAM.

Distinguimos, de uma feita, coccus e bacillos positivos ou negativos para essa coloração, e, ao mesmo, tempo, percebemos os elementos bacilliformes de que falámos ha pouco (aproveita, esse methodo de coloração todo o grupo de cogumelos).

Esses elementos bacilliformes têm um aspecto egual ao que se depara nas culturas do *Streptothrix pulmoneum*. São bacillos com a fórma de um V, no qual uma das pernas apresenta-se mais curta e em angulo mais aberto. Inoculámos o pus em coelhos, cobayas e bezerros.

Por tudo isso, afastamos as pseudo-tuberculoses caseosas, o bacillo de BRIDÉ-LIVORI, o de COZZOLINO, o bacillo pyogenico do boi, o microbio de PREIZ-NOCARD, o microbio de CARRÉ, o de LIGNIERES e SPITZ, etc.

Encontrámos, pelas culturas, pelas inoculações, pelos esfregaços, os germens que já foram descriptos, em ordem de frequencia, noutro lugar.

A molestia de LIGNIERES e SPITZ é digna de registro. O trabalho original daquelles auctores, que tivemos occasião de ler, é interessantissimo. Sendo uma molestia sul-americana, ainda maior se torna o interesse para o nosso ponto de vista.

O agente etiologico da molestia é um pequeno bacillo isolado pelos auctores argentinos, que tem alguns pontos de contacto com os bacillos do typo VRYBURG.

E' um bacillo immovel, GRAM-negativo. Sua disposição em fórma de granulos actinomycoticos, no pus dos tumores, justifica a denominação proposta pelos auctores ao mesmo tempo que os afasta dos bacillos com o typo VRYBURG.

O pus apresenta-se cheio de granulos. A molestia não é só cutanea, senão tambem ossea, lingual, etc. As sementeiras directas do pus são negativas. Ha necessidade de uma previa trituração deste material para que nos meios de cultura germinem os bacillos. No sôro coagulado a cultura é minima. O bacillo é muito virulento para a cobaya. O coelho é bem menos sensivel. O bacillo isolado mede cerca de 1,25 a 1,50 de micron. As cachamorras são muito maiores, e de aspecto radiado.

Como se vê, não ha possibilidade de confusão, desde que se aprofunde os exames, com a molestia aqui estudada.

O diagnostico da modalidade cutanea nem sempre se reveste de facilidade. Nos casos onde as manifestações cutaneas (externas) são minimas, e as organicas (internas) maximas, as pesquizas dos symptomas e lesões devem ser corroboradas por todas as pesquizas de laboratorio comportadas pela observação.

As lesões anatomo-pathologicas auxiliam o diagnostico.

Quanto ao diagnostico da fórma chronica, modalidade intestinal, pode ser esclarecido pela presença de um ou outro polmão. E' preciso não esquecer os commemorativos da epizootia. Ao nosso ver, é esse um dos mais interessantes capitulos da pathologia animal nos nossos campos. Ha diarrheas, e não diarrhea de bovideos.

Nunca nos seduziram os argumentos que entregavam a um unico symptoma

clinico o esteio de uma entidade morbida.

Quando muito, pode haver predominancia de um sobre os demais symptomas.

Um grande numero de molestias dos bovideos produz diarrheas, de intensidade e aspectos varios. Seria enfadonho estar aqui a repetir o que é do conhecimento de todos. E' um engano, pois, assegurar que toda diarrhea nos bezerros, é o que se convencionou chamar PNEUMOENTERITE.

Agora, dizer, por exemplo, que numa entidade morbida, ha fórmas cujo principal symptoma é a diarrhea, ou o abcesso cutaneo, ou a simples magreza, e justificar com isso a creação de simples modalidades da molestia, é coisa differente.

O Posto de Observação e Escola Veterinaria de Bello-Horizonte já tem tido occasião de attender a chamados para tratar epizootias de diarrhea dos bezerros (pneumo-enterite), que não passavam de casos magnificos de peste dos polmões.

O que fizemos no estudo clinico da peste dos polmões obedeceu justamente ao criterio que ahi esboçamos. As modalidades patenteadas esteiam-se em symptomas que coexistem ou surgem separadamente.

Esse engano, de attribuir a um unico symptoma todo o caracteristico ás vezes de uma entidade morbida, é infelizmente bastante espalhado.

Disse-se, por exemplo, o cholera das gallinhas caracteriza-se pela diarrhea.

E' um engano suppor que a diarrhea é o apanagio do chamado cholera das gallinhas.

A diphtheria, a bouba (para alguns a mesma cousa), um bacillo por nós estudado, a espirochetose, etc., provocam nos gallinaceos o mesmo symptoma intestinal.

Nalguns casos, só produzem isso!

A modalidade intestinal da peste dos polmões é um mal muito disseminado, entre os bezerros, nalguns focos. Clinicamente, salvo os casos onde um ou outro polmão existe, não sabemos como differencial-a de outras diarrheas. Ella tambem ataca os bois adultos. E' verdade que, na chamada pneumo-enterite, (principalmente pelos trabalhos allemães) os exames do sangue são elucidativos. De qualquer maneira deve-se recorrer á experimentação (culturas, inoculações, etc.).

Não desejamos todavia terminar este capitulo sem accrescentar o que deve fazer parte de outro mais adeante; isto é, a acção esplendida do sôro preparado contra a peste dos polmões, em casos puros da chamada diarrhea dos bezerros .

O diagnostico da modalidade toxica é menos difficil. No periodo de estado da molestia, o aspecto do bovideo é caracteristico. No estadear a magreza, não conhecemos molestia alguma dos bois que lhe leve a palma.

Quando ainda persistem os signaes de antigos polmões ou mesmo algum raro polmão, o diagnostico se impõe. O creador fornece nesse ponto dados elucidativos.

Pode-se tentar a prova da tuberculina para afastar a tuberculose pelo bacillo de KOCH. Os exames do sangue, da saliva e, já hoje, da urina podem excluir outras causas de erro (anemia perniciosa, raiva), e confirmar as lesões dos rins.

A anatomia-pathologica decide, em ultima instancia, a questão (afastando ou não a tuberculose bacillar de KOCH, os tumores malignos, as mycoses, etc.).

PROGNOSTICO.

O prognostico da peste dos polmões, salvo certos casos chronicos, é sempre severo.

Já vimos que a mortandade pode attingir 99 ou 100 % dos casos.

No interregno das vagas epizooticas, ella chega a 10 %.

Para um bezerro recem-nascido ou com 2 ou 3 mezes o prognostico não pode ser identico ao que fazemos para um boi desenvolvido. Todos os symptomas clinicos devem pezar na balança. Após o emprego do sôro especifico a mortandade baixou a 0,6 % do computo total de 511 inoculações bem verificadas. Quanto mais cedo fizermos o tratamento, tanto melhores os resultados. O emprego do sôro em casos extremos (para simples verificações de laboratorio) tem correspondido á espectativa.

PROPHYLAXIA.

A prophylaxia da peste dos polmões deve visar varias medidas.

Em primeiro logar, o preparo e emprego, em largas doses, dos elementos para a vaccinação. Em segundo, a destruição dos carrapatos. A vaccinação preventiva e curativa evita a disseminação do virus. Nas grandes levas de bois (pontos de passagem) haveria necessidade de selecção dos bovideos suspeitos, que ficariam em observação.

Em havendo casos evidentes, toda a boiada ficaria interdicta até ulterior expurgo dos casos suspeitos e vaccinação dos restantes.

TRATAMENTO.

O tratamento da peste dos polmões até hoje esperava uma elucidação.

Quando a isso se referiram, em 1912, os Profs. HENRIQUE MARQUES LISBOA e EZEQUIEL DIAS, assim se exprimiram: «Em materia de therapeutica tudo está por fazer».

Eram realmente as condições em que encontrámos a materia.

VRYBURG, na fórma da molestia que descreveu (vide ob. cit), achava que a vaccinação activa, com culturas que isolou, era possivel, vaccinação e soro-vaccinação.

Achava tambem este auctor que o iodeto de potassio não tinha acção sobre a evolução da molestia. A abertura dos abcessos, sem outra qualquer medicação, era de todo insufficiente. Essa operação auxiliava a therapeutica especifica; não curava.

VRYBURG não cita elementos estatisticos sufficientes. E' bom lembrar que a molestia de VRYBURG tem numerosos pontos de contacto com a que estudamos. Tantos são elles que propomos, como synonimia, para a peste dos polmões, MOLESTIA de VRYBURG.

Existem, porêm, numerosos outros pontos onde ellas divergem amplamente. Será uma questão simples de adaptação, de clima?

Existem, porêm, numerosos outros com bacillos do typo VRYBURG não deram, na pratica resultados assignalaveis. Temos em vista numerosos processos de immunisação activa ou mixta. Falaremos mais tarde, com mais vagar e experiencias.

A immunização passiva, feita á custa de um sôro preparado pela inoculação de triturado de visceras, pus e sangue, deu magnificos resultados.

A esses antigenos juntavamos, de vez em quando, triturado de carrapatos colhidos sobre os animaes doentes.

Os animaes para o preparo dos sôros eram bois de porte avantajado, e cuja immunidade adquirida ou natural era uma garantia para o emprehendimento.

A immunidade adquirida conseguiamos inoculando virus attenuado na veia do animal ou virus exaltado e sôro especifico. Seguimos aqui as pegadas do preparo do sôro contra a peste bovina na Africa, a peste dos porcos, entre nós.

Empregavamos o sôro especifico em doses variantes de 20 a 100 c.c. conforme a edade do bovideo e gravidade da molestia.

Podemos para aqui trazer, bem verificados, os seguintes numeros:

516 ——————— Total de casos tratados.
177 ——————— Fórma toxica.
339 ——————— {Cutanea / Intestinal

Devemos assignalar que os casos tratados da fórma chronica, modalidade intestinal foram muito menos numerosos que os da cutanea.

Desses 516 bovideos tratados, morreram 3. Baixámos a cerca de 0,6 % a mortandade da molestia. A percentagem de morte era dantes de 100, 95, 50 e 10 %, conforme o periodo ou não das epizootias, e ainda conforme a região dos auctores.

Na ultima panzootia a percentagem de morte que verificámos variou, já o dissemos, entre 100 e 95. Foi durante o seu estagio que empregámos o nosso sôro.

APPENDICE.

O preparo do sôro especifico era facil, uma vez como facil era a conservação do virus no laboratorio. O preparo dos antigenos fazia-se da maneira seguinte.

PUS. Raspava-se o local e desinfectava-se com os mesmos cuidados como se fosse para a colheita de material para sementeiras. O pus era recebido num gral esterilizado, triturado em sôro physiologico a 8,5 o/oo préviamente autoclavado a 120ºC. durante 20 minutos, até a formação de uma emulsão homogenea. Diluia-se o pus em sôro physiologico na proporção de 1/30 ou mais, conforme as necessidades da formação de uma mixtura com um aspecto ligeiramente leitoso. Este material era filtrado préviamente num tamiz de malhas apertadas, metallico, de modo a não ser possivel perceber particula alguma, a olho nu, em suspensão no liquido. Phenicamos ou não (a 0,5 %) este material.

Inoculavamos então este producto na veia do animal.

VISCERAS. Para logo que se verificava a morte do boi ou bezerro, colhiamos as visceras principaes (figado, rins, baço e coração, abandonando os pulmões pela frequente presença, vide microbiologia da molestia, nelles, de germens de contaminação banaes).

Soffriam o mesmo processo de preparo prévio que o pus.—Injectavamos nas veias ou de baixo da pelle dos animaes. O sangue era colhido nas veias dos doentes pelos trocartes commummente usados, com a respectiva apparelhagem de canulos de borracha, esterilizados, e recebido num recipiente contendo citrato de sodio a 1 % ou espheras de vidro para conveniente desfibrinação. A injecção do sangue era, de regra, sub-cutanea.

CARRAPATOS. Eram colhidos, lavados abundantemente em sôro physiologico esterilizado, triturados após, num gral nas mesmas condições que o pus.

Diluimos o triturado a 1/10.

Todos esses antigenos eram submettidos a exames previos de sementeiras e esfregaços.

Nota.

A presente nota é um complemento ao artigo.

Este já se estava imprimindo, quando terminámos nossas experiencias.

Si bem que já tivessemos transformado casos de peste dos polmões em de pneumo-enterite, faltava, em nossos trabalhos, uma prova, a ultima, a transformação de um «curso», ou pneumo-enterite, puro, classico, (fórma chronica, modalidade intestinal) em peste dos polmões, propriamente dita (fórma chronica, modalidade cutanea).

Conseguimos esta transformação agora, partindo de material infectante, proveniente de casos puros de pneumo-ente-

rite, já anteriormente experimentado com numerosos resultados positivos. A peste dos polmões assim obtida, manteve-se em serie. As photographias que conseguimos dessas ultimas experiencias não puderam mais ser incluidas no presente trabalho.

Assignalaremos ainda a questão dos polmões internos, de que já falámos no decorrer do artigo. Ao em vez, porêm, de polmões apenas no parenchyma pulmonar apurámos tambem em outras regiões do corpo. Alguns herniando atê na cavidade peritoneal, recobertos pelo peritonio parietal, e com todos os caracteres dos cutaneos.

Ao Dr. CARLOS CHAGAS agradecemos a hospedagem honrosa destas columnas.

Ao Dr. HENRIQUE MARQUES LISBOA desejamos testemunhar nossa gratidão pelo adjutorio que trouxe á realização do nosso tentame. Elle não facilitou apenas todas as nossas experiencias; interessou-se pela sua execução; aconselhou-nos num assumpto que já lhe era familiar. Sem elle, não nos seria possivel o emprego de tão grande numero de animaes de alto preço (bois, bezerros, vaccas, carneiros, etc.) nos nossos trabalhos.

Agradecemos o Snr. OCTAVIO M. LISBOA algumas das micro-photographias que aqui exhibimos.

Ao nosso auxiliar Sr. PEDRO CH. BICALHO deixamos nestas linhas nossos agradecimentos pelo muito que lhe devemos na feitura deste trabalho.

PROTOCOLLOS:

Bezerro malhado.

		Já immunizado contra a peste dos polmões pela inoculação de virus glycerinado e morto.
1ª	inoculação	20 c.c. de emulsões de orgãos e liquido das serosas de um boi morto pela modalidade cutanea. Via intra-muscular..... 25—8—919.
2ª	«	50 c.c. de emulsão de carrapatos colhidos sobre bovideos doentes sendo..... Via intra-venosa.. 30 cc. 27—8—1919 Via intra-muscular. 20 cc. 27—8—1919
3ª	«	10 c.c. de emulsão de carrapatos. Via sub-cutanea..... 1—9—1919
4ª	«	60 c.c. emulsão de carrapatos. Via intra-venosa..... 4—9—1919
5ª	«	40 c.c. emulsão orgãos virulentos. Via intra-venosa..... 6—9—1919
6ª	«	100 c.c. emulsão orgãos phenicados a 0,5 %. Via intra-venosa..... 10—9—1919
7ª	«	250 c.c. emulsão orgãos phenicados a 0,5 %. Via intra-venosa..... 18—9—1919
8ª	«	320 c.c. emulsão orgãos phenicados a 0,5 %. Via intra-venosa..... 20—9—1919
9ª	«	180 c.c. emulsão orgãos sem phenicar. Via intra-venosa..... 27—9—1919
10ª	«	200 c.c. emulsão orgãos sem phenicar. Via intra-venosa..... 1—10—1919
	.....	Sangria de 3.500 grs..... 6—10—1919

11ª Inoculação..... 1000 c.c. de sangue citratado boi doente.
Via sub-cutanea..... 8-10-1919

..... Sangria de 3.500 grs..... 23-10-1919

12ª ..... Inoculação de 250 c.c. partes eguaes de sangue e pus.
Via intra-venosa..... 24-10-1919

Amanheceu morto no dia seguinte. A necropsia revelou: Derrame peritoneal citrino. Congestões pulmonares e renaes intensas.

Bois Nos. 10 X, 11 X, 13 X.

Eram bois de porte avantajado. Já haviam tido a molestia e della escaparam.

1ª Inoculação..... Ao todo 100 c.c. ãa { Sangue / Pus..... via intra-venosa..... 5-XII-1919. / Visceras.

2ª Inoculação..... 200 c.c. ãa { Sangue / Pus..... via intra-venosa..... 9-XII-1919. / Visceras.

3ª Inoculação..... 500 c.c. aã { Sangue / Pus..... via intra-venosa..... 14-XII-1919. / Visceras.

4ª Inoculação..... 1000 c.c. ãa { Sangue / Pus..... via intra-venosa..... 19-XII-1919. / Visceras.

5ª Inoculação..... 1.500 c.c. aã { Sangue / Pus..... via intra-venosa..... 25-XII-1919. / Visceras.

Sangravamos, (com 4 litros de sangue) cada um destes bovideos, 12 dias após a ultima inoculação. Alguns delles resentiam-se consideravelmente com as inoculações, particularmente as ultimas.

Injectavamos, como se vê, partes eguaes de sangue, pus e visceras em proporção crescente. As injecções eram lentamente feitas, e ao menor signal de dyspnea ou agitação retiravamos a agulha da veia.

Cavallo X 3.

(Sôro contra os bacillos com o Typo de VRYBURG).

1ª Inoculação..... 2 c.c emulsão, em sôro physiologico, de uma cultura (24 h.) em agar-agar, de bacillos, typo VRYBURG, morta pelo aquecimento durante ½ hora. via intra-muscular. Quarto esquerdo 17-9-1917.

Nota: Pouco tempo depois mostrou-se este animal inquieto, triste, regeitando a comida. Restabeleceu-se alguns dias após.

2ª Inoculação..... 2 c.c. de uma emulsão mixta (1 alça de platina de 4 culturas em 6 c.c. de sôro physiologico), morta a 60ºC. durante 5 minutos, via intra-venosa (do mesmo bacillo.) 22-9—1917.

3ª Inoculação..... 4 c.c. emulsão semelhante á nº. 2, via intra-venosa. 25-9-1917.

4ª Inoculação..... Inoculado com emulsão semelhante á nº. 2, 6 c.c. via intra-venosa 28—9—1917.

5ª Inoculação..... Idem, idem. 1-X-1917, 12 c.c.

6ª Inoculação..... Inoculado com emulsão semelhante, VIVA, na veia, 5-10—1917 2 c.c.

7ª Inoculação..... Inoculado com 4 c.c. emulsão semelhante a do nº. 2, VIVA; 8—10—1917. via intra-venosa.

8ª Inoculação..... Inoculado com 8 c.c. etc., como na 7ª. 12—10—1917.

9ª Inoculação..... Inoculado com 16 c.c. etc., como na 7ª. 20—10-1917.

10ª Inoculação..... Sangria de 4 litros, 25-10-1917.

11ª Inoculação..... Inoculado com 32 c.c. intra-venosa, de uma emulsão mixta, viva, riquissima. Esta emulsão era preparada semeando em garrafas de Roux os bacillos, em superficie, e abandonando á estufa durante 24 horas a 37ºC. Seria o conteudo de 2 garrafas de Roux. 30-10-1917.

12ª Inoculação..... Inoculado com 25 c.c. etc., como na nº. 11, 13-11-1917.

13ª Inoculação..... Inoculado com 12 c.c. etc., como na nº. 11, 22-11—1917.

14ª Inoculação..... Inoculado com 14 c.c. etc., como na nº. 11, 6—12-1917.

15ª Inoculação..... Sangria de 2.500 grs. 15-12-1917.

16ª Inoculação..... Inoculado com 12 c.c. de emulsão viva, proveniente de uma garrafa de Roux, via intra-venosa. 22—12—1917.

17ª Inoculação..... Inoculado com 14 c.c. etc., como o nº. 16 6—12—1917.

18ª Inoculação..... Sangria de 2.500 gram. 28-12—1917.

19ª Inoculação..... Inoculado com 12 c.c. etc., como o nº. 11, 28—12—1917.

Nota: O animal 2 minutos após a inoculação mostrou-se tonto, titubeante. Marcha de ebrio. Cabeça pendente. Durou este estado cerca de 5 minutos. 24 horas após estava completamente bom.

20ª Inoculação..... Inoculado com 18 c.c. emulsão rica, mixta, VIVA, proveniente de 2 garrafas de Roux (sementeiras em superficie), culturas de 24 horas, na estufa a 37ºC.

Via sub-cutanea (Pá direita). 8—1—1918.

Nota: Houve tumefação intensa no local da inoculação. O animal ficou impossibilitado de caminhar. Restabeleceu-se com facilidade.

21ª Inoculação..... Inoculado com 12 c.c. etc., via intravenosa 7 c.c.

Via sub-cutanea 5 c.c. 22—1—1918.

Nota: Reacção identica, no ponto de inoculação sub-cutaneo a nº. 20.

22ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. etc., via intra-venosa. 13—2-1918.

23ª Inoculação..... Sangria de 3 litros. 18—2—1918.

24ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. etc., Como o nº. 11.
Via intra-venosa.
Nota: Nem febre, nem falta de appetite, etc., 1—3—1918.

25ª Inoculação..... Sangria 3.500 gram. 2—3—1918.

26ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. etc., como o nº. 2. 22—3—1918.

27ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. etc., como o nº. 2. 4—4—1918. (ás 4 1/2 da tarde).
Nota: Cousa alguma apresentou digna de registro immediatamente após a inoculação, comeu a ração muito bem Cahiu, para não mais se levantar ás 9 horas da noite do mesmo dia. Morreu nesta noite. Necropsia revelou: Nephrite dupla, intensissima á direita. Havia pyelonephrite á direita.

É preciso annotar á margem deste protocollo o seguinte: as quantidades varias de emulsões inoculadas não significam quantidades differentes de germens injectados. Repetiamos sempre a mesma technica para todos os casos.

Sementeiras, em superficie, no agar-agar simples ou glycerinado, durante 24 ou 48 horas, na estufa a 37ºC. A quantidade de sôro addicionado a cada garrafa é que variava.

Bezerro A 2.

(Sôro contra os bacillos do typo VRYBURG).

1ª Inoculação..... Inoculado com 4 c.c. de emulsão, em sôro physiologico, morta, mixta, via intra-venosa de bacillos com o typo de VRYBURG. 22—9—1917.
Nota: Era a emulsão de 4 amostras, semeiadas em tubos agar-agar inclinado, em superficie, que permaneceram durante 36 horas na estufa a 37ºC.

2ª Inoculação..... Inoculado com 4 c.c. da mesma emulsão que a nº. 1, mesma via. 25—9—1917.

3ª Inoculação..... Inoculado com 4 c.c. etc., 28—9—1917.

4ª Inoculação..... Inoculado com 8 c.c. etc., 1—10—1917.

5ª Inoculação..... Inoculado com 5 c.c. de emulsão VIVA, o mais como o nº. 1.

6ª Inoculação..... Inoculado com 4 c.c. de emulsão VIVA etc., 8—10—1917.

7ª Inoculação..... Inoculado com 8 c.c. de emulsão VIVA etc., 11—10—1917.

8ª Inoculação..... Inoculado com 16 c.c. de emulsão VIVA etc., 20—10—1917.

9ª Inoculação..... Inoculado com 16 c.c. de emulsão VIVA etc., 30—10—1917.

10ª Inoculação..... Inoculado com 11 c.c. de emulsão proveniente de 3 tubos de bacillos, com o typo de VRYBURG, semeados em tubos de agar-agar inclinado e abandonados á estufa durante 36 horas á temperatura de 37ºC. VIVOS.

11ª Inoculação..... Inoculado com 12 c.c. de emulsão em sôro physiologico a 8,5 º/ºº, proveniente da sementeira, em estrias, de duas garrafas de Roux (agar-glycerinado) durante 36 horas na estufa a 37ºC. Via intra-venosa. VIVOS.

12ª Inoculação..... Sangrámos a 24—2—1917, para experiencias, cerca de 500 c.c.

13ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. etc., como o nº. 2. 6—12—1917.

14ª Inoculação..... Sangrámos, á vista do resultado das experiencias com a pequena quantidade retirada anteriormente, 3 litros.

14ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. de emulsão etc., como o nº. 2. 28—12—1917.

15ª Inoculação..... Inoculado com 24 c.c. de emulsão etc., como o nº. 2. 8—1—1918.

16ª Inoculação..... Inoculado com 15 c.c. {550 via intra-venosa. {10 c.c. via sub-cutanea.

Proveniente de 2 garrafas de Roux (4 typos de bacillos), VIVOS, emulsão em sôro physiologico, etc.

Nota: Phenomenos alarmantes immediatos. Restabelecimento rapido. 22—1—1918.

16ª Inoculação..... Inoculado a 1—3—1918 com 10 c.c. de emulsão, mixta, rica, VIVA (4 typos de bacillos), via intra-venosa, proveniente do desenvolvimento dos bacillos em agar-agar, inclinado, na estufa a 37ºC., em sôro physiologico durante 36 horas.

Nota: Phenomenos alarmantes immediatos. Tremor, dyspnea intensa, sudação, convulsões, 40º,6 C. no recto. Deixou de comer a ração. Emmagrecimento em horas, si assim nos podemos exprimir.

Morreu a 3—3—1918. Nephrite dupla. Um dos rins tinha o aspecto de banha de gallinha.

Bezerro A 3.

(Sôro contra os bacillos com o typo VRYBURG).

1ª Inoculação..... Inoculado com 4 c.c. de emulsão, morta, rica, mixta, de 5 typos de bacillos (desenvolvidos em tubos de agar-agar inclinado na estufa, durante 36 horas a 37ºC.)
Via intra-muscular. 23—3—1918,

2ª Inoculação..... Inoculado com 2 c.c. emulsão—VIVA—etc., como na 1ª. 4—4—1918.

3ª Inoculação..... Inoculado com emulsão VIVA etc., dentro da veia 4 c.c. 22—4—1918.

4ª Inoculação..... Inoculado com 8 c.c. emulsão VIVA etc., intra-venosa. 26—4—1918.

Nota: O animal está muito magro.

5ª Inoculação..... Inoculado com 6 c.c. emulsão VIVA etc., intra-venosa. 31—5—1918.

Amanheceu morto a 1—6—1918. Isolou-se um bacillo com o typo VRYBURG do sangue do coração.

Cavallo N. X. 4.

(Sôro contra os bacillos com o typo VRYBURG).

1ª Inoculação..... Inoculado emulsão, morta, rica, mixta, (4 typos de bacillos) via intra-muscular, em sôro physiologico a 8,5 º/oo, esterilizado préviamente, 4 c.c. 31—5—1918.

Nota: Ha edema grande, não só do ponto da inoculação, se não tambem de toda a perna em correspondencia com a

pá aonde fizemos a inoculação. O animal não podia levantar a perna. Apenas arrastava. Houve formação de abcesso, com suppuração prolongada e pus fetido, aquoso.

2ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. etc., como em nº. 1. 18—6—1918.
Nota: Houve ligeira fumefacção local.

3ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. de emulsão etc., VIVA via sub-cutanea, proveniente de 8 typos de bacillos do typo VRYBURG.
Culturas em agar-agar glycerinado, em superficie, (semeadas nagua de condensação do tubo e após espalhados sobre o meio de cultura) 36 horas, na estufa a 37ºC. 3—7—1918.
Nota: Enorme edema doloroso no ponto da inoculação 24 horas após. O animal não podia senão arrastar a perna correspondente á pá aonde foi inoculada a emulsão virulenta. O edema extendeu-se, nos dias seguintes pela perna a fóra. A 10 de 7 do mesmo anno ainda não movia a perna. Restabeleceu-se pouco tempo após.

4ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. etc., como na 3ª, etc.. 23—7—1918.
Nota: Lesões geraes e locaes menores.

5ª Inoculação..... Inoculado com emulsão 20 c.c. etc., como na 3ª, via intra-muscular, porém. 7—8—1918.

6ª Inoculação..... Inoculado com 20 c.c. etc., como na 3ª. 20—8—1918.
Nota: Inchaço local. Animal arrastou a perna. Comeu bem.

7ª Inoculação..... Inoculado pela technica de BESREDKA, como na 6ª. 3—9—1918.
Nota: Formou-se um abcesso local. Pus fetido. Ferida de facil cicatrização.

8ª Inoculação..... Inoculado com 20 c.c. de emulsão proveniente de 8 tubos de agar etc. (a emulsão primitiva tinha sido de 40 c.c. dos quaes desprezamos 20 c.c.)
Via intra-muscular. 16—9—1918.
Nota: O edema local volumoso. Marcha difficil. Restabelecimento rapido.

etc. etc. etc.

Fôra inutil proseguir nessa resenha, que basta, pensamos nós, para dar uma idéa do trabalho com este animal.

Bezerro A 4.

(Sôro contra os bacillos com o typo VRYBURG).

1ª Inoculação..... Inoculado com 6 c.c. de emulsão em sôro physiologico a 8,5 º/ºº esterilizado. Emulsão mixta: 4 typos de bacillo de VRYBURG. Via intra-muscular: Nenhuma reacção. 18—6—1918.

2ª Inoculação ..... Inoculado com 10 c.c. de emulsão de cultura VIVA proveniente de 8 tubos de agar glycerinado em superficie, 36

horas na estufa a 37°. Typos de bacillo VRYBURG. Via intra-muscular. 3—7—1918.

Nota: Edema local consideravel. O animal pouco move a pata correspondente. Restabelecimento rapido. 10—7—1918.

3ª Inoculação..... Inoculado com 12 c.c. como na segunda. 27—8—1918.

4ª Inoculação..... Como na segunda. 7—8—1918.

5ª Inoculação..... Inoculado com 20 c.c. como na segunda. 20—8—1918.

Nota: Inchaço local notavel. O animal não move a pata correspondente ao local da injecção.

6ª Inoculação..... Inoculado com 20 c.c. etc., como na segunda, seguimos a technica de BESREDKA para evitar anaphylaxia. Via intra-muscular. 11—9—1918.

7ª Inoculação..... Inoculado com 20 c.c. como na 2ª.

Nota: O animal claudicou a perna. Edema local volumoso. 23—9—1918.

8ª Inoculação..... Inoculado com 10 c.c. como na 2ª. 3—10—1918.

Intervallo de 3 mezes.

Recomeçámos então as inoculações, com injecções de sangue, pus e triturado de orgãos. O animal contrahiu a molestia typica. Emmagreceu, teve falta de fome. Polmões typicos, etc. Tratamos pelo sôro dos BOIS 10 X, 11 X, etc.

Restabeleceu-se. Serviu-nos depois esse animal para numerosas inoculações immunizantes. Chegámos, impunemente a inocular, via sub-cutanea doses consideraveis de material virulento (460 c.c. ao todo, sendo 250 c.c. via intra-venosa, de emulsão de pus e visceras e 210 c.c. de sangue de uma só vez, via sub-cutanea). Até hoje tem levado 45 inoculações de procedencia varia, virulentas, por vias differentes.

Explicação das figuras.

TRAÇADOS.

Nº. 31 — Boi inoculado, no dia 8 de Setembro de 1919, em Bello Horizonte, com pus do boi de Peripiry. Exemplo de hypothermia.

Nº. 80 — Boi inoculado 5 c.c. da emulsão do triturado de rim, baço e figado do bezerro Nº. 78, no dia 8 de Setembro de 1920.

Nº. 75 — Boi inoculado no dia 7 de Junho de 1920, ás 3 horas da tarde, com 50 c.c. de sangue desfibrinado do boi D., sendo 25 c.c. subcutaneos e outro tanto intra-venosos.

Nº. 68 — Boi inoculado, no dia 15 de Março de 1920 ás 4 horas da tarde, com 2 c.c. do triturado de orgãos e secreção do edema local do bezerro 67 (que por sua vez havia sido inoculado com material virulento do bezerro 65), via subcutanea. Morreu a 17 de 10 de 1920 (5 mezes após). Fórma toxica, lesões typicas. A primeira parte do traçado é a de adaptação do animal (dos campos) ás baias.

Nº. 65 — Aonde se lê, na segunda estampa desse traçado. Janeiro leia-se Fevereiro. Molestia natural. Os raros polmões desappareçeram completamente a 1 de Fevereiro de 1920. O animal começou a «seccar». Fórma toxica.

Nº. 63 — Fórma toxica. Tinha raros «polmões»: No dia 1 de Janeiro de 1920 desappareceram completamente os inchaços cutaneos. Começou o bezerro a seccar. Chegou até a cachexia, 120 dias de molestia.

Nº. 79 — Boi inoculado com cultura pura, bacillo typo de VRYBURG. Quasi não se nota febre.

Nº. 2 P — Bezerro inoculado com cultura pura, em caldo, do *Diplococcus polmonis*, variedade «*b*», via subcutanea. Morte em 18 dias. Polmões typicos, emmagrecimento notavel. Reinsulou-se o *diplococcus* dos orgãos e pus local. Damos apenas um trecho caracteristico do traçado thermico, colhido em Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, de Março a Abril.

Nº. 3 — Traçado thermico de um boi normal, typo da raça HEREFORD, em Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, para comparação: 1º com outro normal da raça creoula colhido em Minas Geraes; 2º com outros bois doentes no proprio Estado do Rio Grande do Sul. Abril de 1921.

Nº. 17 — Traçado thermico do coelho inoculado com cultura pura do *Diplococcus polmonis* «*b*» via sub-cutanea. Cultura de 48 horas em caldo. Formação de um polmão typico na parede do ventre. Pelotas, Abril de 1921.

Nº. 16 — Traçado thermico de um boi normal, creoulo, em Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul. Para typo de comparação com outros bois da mesma raça deste e de outros Estados.

Nº. 11 P — Boi inoculado a 20 de Janeiro de 1921, pela manhã, com cultura pura, em caldo, do *Diplococcus polmonis* «*b*». Polmões typicos. Lesões caracteristicas para os rins, baço e figado. Derramamento para o pericardio e peritonio. Reinsulou-se dos orgãos e do pus local. o *diplococcus polmonis* «*b*». Morte em um mez e 9 dias.

Nº. 64 — Inoculado com cultura do bacillo diphteroide 2 c.c. por via sub-cutanea. Alta.

Nº. 89—Inoculado com 2 c.c. de emulsão de cultura do bacillo do typo VRYBURG, insulado do sangue do boi «D». Alta.

Nº. 90 — Inoculado a 24 de Julho de 1920, com emulsão da cultura do *Diplococcus polmonis, «b»*, insulado do pus do boi «D». Alta.

Nº. 15—Inoculado pela manhã do dia 22 de Julho de 1920, com 10 c.c. 5 c.c. via sub-cutanea e 5 c.c. intra-venosa da emulsão do bacillo com o typo VRYBURG. Morreu em 14 dias. Não apresentou polmões.

Nº. 77 — Inoculado com bacillo do typo VRYBURG, insulado do boi «D», via intra-venosa. Alta.

Nº 82—Inoculado com 4 c.c. de uma cultura, em caldo, do bacillo diphteroide, insulado do pus boi «D», via sub-cutanea.

Nº. 52 — Boi inoculado com 10 c.c. de uma cultura, em caldo, via sub-cutanea, *Diplococcus polmonis «b»*, insulado do pus do bezerro 56, no dia 13 de Dezembro de 1920. Inchaço local, emmagrecimento. O polmão formado estava cheio de um pus fetido, de onde se reinsularam os germen communs, já descriptos. Alta.

Nº. 1 — Poldro inoculado com 5 c.c. de cultura de bacillos com o typo dos de VRYBURG (insulado do bezerro 66), pela manhã do dia 13 de Fevereiro de 1920. Alta.

Nº. 51—Boi inoculado a 24 de Dezembro de 1919, com cultura pura *Diplococcus polmonis* «b», insulado do tumor de um coelho que por sua vez havia sido inoculado com cultura anaerobia do pus do bezerro 56, via sub-cutanea. Houve formação de pus local. Animal triste. Morte em 7 dias Reinsulamos do pus o *diplococcus* e bacillos com o typo VRYBURG, Congestões pulmonares e intestinaes. Derramamento peritoneal e pericardico.

Nº. 73—Inoculado a 12 de Junho de 1920 com 3 c.c. de emulsão de cultura do bacillo typo VRYBURG, do boi «D», via sub-cutanea. Damos este traçado por um dever de lealdade. Em vida nada apresentou da molestia. Não reinsulamos os bacillos com o typo dos de VRYBURG. Engordou. Não teve polmões ou diarrheas. Houve, por essa occasião, em Bello-Horizonte, uma baixa repentina de temperatura. A necropsia revelou notavel quantidade de *pneumococcus* no pulmão. Reinsulamos o *pneumococcus*.

Nº. 14 — Animal creoulo, creado nos campos do Brazil. Na segunda parte deste traçado leia-se ao em vez de mez de Junho, Julho. Injectado a 20 de Junho de 1919, pela manhã cedo, com triturado de carrapatos *(Boophilus microplus* e *Amblyoma cannejense)*, via intra-venosa. Os carrapatos haviam sido colhidos sobre o corpo de um boi com a molestia natural (Curralinho). Morte com um mez e 18 dias de molestia.

Nº. 61 — Animal creoulo, creado nos campos do Brazil. Inoculado a 20 de Dezembro de 1919, pela tarde, via sub-cutanea, com 10 c.c. de triturado de carrapatos *(Booophilus microplus)*, colhidos sobre o bezerro 56 (molestia natural) e conservados no laboratorio durante 72 horas. No dia 26 teve diarrhea preta. No dia 2 de Janeiro teve polmões typicos,

magreza. Apresentou tambem inchaço articular.

Nº. 32 — Boi inoculado com pus virulento, via sub-cutanea, no dia 8 de Setembro de 1919. Exemplo de hypothermia. Boi creado nos campos do Brazil.

Nº. 23 — Boi creado nos campos do Brazil, inoculado com pus virulento, via sub-cutanea a 30 de Julho de 1919.

Nº. 13b — Fórma benigna. Boi inoculado com pus virulento a 30 de Julho de 1919.

Nº. 12 — Boi inoculado com pus virulento, via sub-cutanea. Fraca variação de temperatura.

Nº. 9 — Boi inoculado com pus via sub-cutanea. Resultado negativo.

Nº. 13 — Bezerro inoculado com pus virulento do bezerro 63, em 1 de Maio de 1920.

Nº. 74 — Retire-se deste traçado (e emende-se pois, dahi por deante) o dia 31 de Junho. Ao em vez de Setembro leia-se Agosto. Inoculado com 10 c.c. de emulsão de pus do boi «D», via sub-cutanea, na tarde do dia 5 de Junho de 1920. No dia 20 do mesmo mez foi aberto o polmão no ponto da inoculação.

Nº. 86—Injectado por via sub-cutanea, com 9 c.c. (em sôro physiologico) de pus virulento (proveniente do boi com molestia natural), em 3 pontos diversos do corpo (3 c.c. para cada um). Nunca teve diarrheas. Teve polmões. 34 dias de molestia e morte.

Nº. 27 — Injectado com 5 c.c. emulsão de pus do bezerro 63, via intra-venosa, na tarde de 1 de Maio de 1920.

Nº. 59—Boi inoculado com 45 c.c. (22 c.c. via intra-venosa e 23 c.c. via sub-cutanea, do filtrado, em velas BERKFELD, do triturado dos carrapatos colhidos sobre o bezerro Nº. 56, a 20 de Dezembro de 1919. Teve febre alta, emmagrecimento, e polmões typicos. Manteve-se em serie a molestia, com o pus destes inchaços.

Nº. 58—Boi inoculado com filtrado, em velas BERKEFELD, de emulsão do pus do bezerro 56, sendo 20 c.c. por via sub-cutanea e 10 c.c. por via intra-venosa, ás 3 horas da tarde de 20 de Janeiro de 1920.

Nº. 39 — Boi inoculado com 20 c.c. de filtrado, em velas BERKFELD, de emulsão de pus e sangue (desfibrinado) do boi de Peripiry, pela manhã do dia 15 Janeiro de 1920. Teve 41 graós de febre, diarrhea branca a 18 do mesmo mez. Continuou com diarrhea intensa até o dia 29 do mesmo mez.

Nº. 10 — Boi inoculado com filtrado em velas BERKEFELD, do pus e sangue de outros bois com a molestia natural (fórma mixta). Injecção á 11 de Julho de 1920. Pequena reacção thermica.

Nº. 53 — Boi inoculado com 25 c,c. de filtrado do triturado de visceras (bezerro Nº. 56). Um trecho do traçado. A inoculação foi feita no dia 19, via sub-cutanea. Fórma toxica. Morreu com um mez e 4 dias de molestia, em grande magreza.

Nº. 55a—Boi, ainda em mammentação, injectado com 5 c,c. de emulsão em sôro physiologico a 8,5 o/oo, esterelizado, de virus secco. (material negativo para qualquer especie de germen visivel, aerobio ou anaerobio, via sub-cutanea, no dia 11 de Dezembro de 1920, á tarde. Teve febre alta e diarrhea.

Nº. 67 — Boi injectado com 22 c.c. de emulsão de triturado de orgãos do bezerro 63 (fórma toxica), via sub-cutanea, á tarde do dia 12 de Fevereiro de 1920. Morte a 14 do mesmo mez e anno pela manhã.

Nº. 62—Injectado por via sub-cutanea com 12 c.c. de emulsão de triturado, em sôro physiologico a 8,5 o/oo., esterilizado, de visceras e pus do bezerro 56 (fórma chronica, modalidade cutanea). Diarrhea, abatimento. Morte em 72 horas.

Nº. 26—Traçado de um boi sadio, pela mesma occasião.

Nº. 2X — Traçado de um boi de Peripiry, molestia natural.

Nº. 10A—Traçado de boi normal.

Nº. 20—Traçado de boi normal.

Nº. 24 — Traçado de um boi com a molestia natural. Fórma chronica, cutanea, irregular. Morte em 14 de Agosto de 1919.

Nº. boi D.—Boi com a molestia natural, fórma chronica, modalidade cutanea. Trechos do traçado, 8 mezes de molestia (Abril-Novembro). Morte. Lesões typicas. Reinsulamos os microbios já descriptos. Abundantes polmões. Nunca teve diarrheas. Emagreceu muito. (Os polmões se conservaram até á morte).

Nº. 8 — Traçado de um boi com a molestia natural, fórma chronica, modalidade cutanea.

Nº. 1 X — Traçado de um boi com a molestia natural, fórma chronica, modalidade cutanea.

Nº. 56 — Molestia natural. Bezerro com um mez. Chegou ao laboratorio magrissimo. Teve «Curso preto». Contamos 66 Polmões cutaneos. Morte.

Nº. 66 — Molestia natural, Fórma chronica, modalidade cutanea. Morte.

Nº. 22 — Boi com a molestia experimental, fórma chronica, grave, modalidade cutanea. Exemplo de hyperthermia.

Nº. 70 — Boi com a molestia experimental, fórma chronica, c.c. de triturado de visceras do bezerro Nº. 63, (15 c.c. por via sub-cutanea e 10 c.c. na intra-venosa) no dia 13 de Março de 1920. Edema doloroso no ponto de inoculação no dia 15 do referido mez. Morte a 26 de Março desse anno.

PHOTOGRAPHIAS E MAPPAS.

Mappa Nº. 1 — Distribuição da molestia no Brazil.

Mappa Nº. 2 — Distribuição da molestia em Minas Greaes.

Phot. Nº. 1 — Molestia natural do bezerro Nº. 56, Fórma chronica, grave modalidade cutanea (peste dos polmões).

Phot. Nº. 2 — Molestia experimental. Fórma chronica, modalidade cutanea. Inchaço articular na pata anterior direita.

Phot. Nº. 3 — Boi D. Molestia natural Fórma chronica, modalidade cutanea.

Phot. Nº. 4 — Bezerro Nº. 68 «b». Molestia natural. Fórma chronica, grave, modalidade cutanea.

Phot. 5 — Molestia natural. Fórma chronica, modalidade cutanea. Inchaço articular.

Phot. Nº. 6 — Molestia experimental Fórma chronica, modalidade cutanea. Bezerro inoculado com filtrado em vela BERKEFELD do triturado de carrapatos.

Phot. Nº. 7 — Molestia experimental (aspecto natural dos polmões). Fórma chronica, modalidade

cutanea, grave. Morte. Bezerro inoculado com filtrado em velas BERKEFELD, de emulsão do pus de outro boi, com a molestia natural.

Phot. N°. 8 — Outro bezerro, injectado com filtrado em velas BERKEFELD. Emulsão de pus e sangue de outro boi (com a fórma chronica, modalidade cutanea, grave, molestia natural) Produzimos a molestia experimental, chronica, modalidade cutanea, grave. Morte.

Phot. N°. 9 — Outro aspecto do bezerro N°. 7.

Phot. N°. 10 — Exemplo de um boi adulto, das proximidades de Lassance (panzootia de 1919) Fórma chronica, grave, modalidade cutanea, Morte.

Phot. N°. 11 — Boi N°. 26 Polmão. Injectado com triturado de carrapatos, sem filtrar Molestia experimental.

Phot. N°. 12 — Bezerro N°. 22. Molestia experimental. Na coxa esquerda ha um largo polmão. Injectado com pus do boi de Curralinho.

Phot. N°. 13 Boi com molestia natural. Fórma chronica, modalidade cutanea, grave. Morte. Polmões vistos de lado, raspados, com a navalha, os pellos.

Phot. N°. 14 — Bezerro N°. 63. Fórma chronica, modalidade toxica. Molestia natural.

Phot. N°. 15 — Bezerro N°. 65. Molestia natural. Fórma chronica, modalidade toxica.

Phot. N°. 16 — Bezerro N°. 65a. Molestia experimental. Fórma chronica. Modalidade cutanea. Injectado com triturado de visceras animaes com a molestia natural toxica.

Phot. N°. 17 — Bezerro 17. Inoculado com cultura anaerobia do pus. Molestia experimental. Houve a formação de dois pequenos polmões.

Phot. N°. 18 — Molestia experimental Bezerro inoculado com triturado de visceras. Formação de «papo».

Phot. N°. 19 — Molestia experimental, Bezerro inoculado com triturado de carrapatos, colhidos em bois com a molestia natural Teve polmão (vide a flecha). Morreu, com a fórma toxica.

Phot. N°. 20 — Polmão no intimo do parenchyma pulmonar. Boi com a molestia natural, fórma chronica, grave modalidade cutanea. A flecha indica a caverna deixada no pulmão pelo esvasiamento do pus.

Phot. N°. 21 — Mesmo material. Os pulmões antes da abertura do «polmão». Aspecto geral de grande congestão. Orgão inteiriço.

Phot. N°. 22 — Esfregaço de cultura pura, do *Diplococcus polmonis*, variedade «b» (GRAM-positivo).

Phot. N°. 23 — Esfregaços de culturas, puras do *Diplococcus polmonis*, variedade «a» (GRAM-negativo).

Phot. N°. 24 — Esfregaços do bacillo diphteroide.

Phot. N°. 25 — Bacillo insulado do triturado de carrapatos.

Phot. N°. 26 — Cogumelo, typo *Estreptothrix*, insulado dos polmões.

Phot. N°. 27 — Bacillo GRAM-positivo, insulado do pus.

Phot. N°. 28 — Bacillo com o typo VRYBURG, em anaerobiose.

Phot. N°. 29 — Bacillo typo VRYBURG, em anaerobiose .

Phot. N°. 30 — Colonias de *Diplococcus polmonis*, variedade «a» Placa de agar-agar glycerinado com 8 a 10 dias de sementeira. Cultura directa do pus, quasi purá. Só germinaram mais

duas colonias de *Staphylococcus*.

Phot. N°. 31 — Colonias de *Diplococcus polmonis*, variedade «a». Culturas de 10 dias Oc. 5 Obj. AA Tubo a zero.

Phot. N°. 32 — Colonias dos bacillos com o typo de VRYBURG. Cultura em agar, semelhantes ás colonias do *Diplococcus*, variedade «a»: Occ. 5 Obj. AA Tubo a zero.

Phot. N°. 33 — Outro aspecto da cultura do *Diplococcus polmonis*, variedade «a». Colonias em superficie.

Phot. N°. 34 — Cultura de bacillo do typo VRYBURG, em anaerobiose. Pequenissimas colonias.

Phot. N°. 35 — Sementeiras directa do pus dos polmões em anaerobiose. Colonias grandes e pequenas.

Phot. N°. 36 — Carrapatos. *Boophilus microplus*, femea, cheia de sangue. Um dos vectores da molestia.

Phot. N°. 37 — Carrapatos *Amblyoma cayennense*, femea. Um dos vectores do mal.

Phot. N°. 38 — Córte de pelle, nas margens de um polmão.

Phot. N°. 39 — Outro aspecto de um córte de pelle. Margem da caverna de um polmão. Notavão-se, ahi, numerosos germens, inclusive bacillos do typo VRYBURG.

Phot. N°. 40 — Córte de Pelle, borda de um polmão.

Phot. N°. 41—Córte do parenchyma pulmonar. Vasos turgidissimos. Lesão intersticial.

Phot. N°. 42 — Córte de pulmão. Pneumonia, typo cellulo-fibrinoso alveolar. Fórma chronica, modalidade cutanea.

Phot. N°. 43 — Córte de pulmão. Pneumonia do typo intersticial.

Phot. N°. 44—Córte de Rim. Nephrite aguda, hemorrhagica. tubo-giomerular.

Phot. N°. 45—Córte de rim. Nephrite chronica (proliferação consideravel do tecido conjunctivo).

Phot. N°. 46—Molestia experimental. Fórma chronica, grave anomala, articular, visto de lado. A flecha indica o orificio da fistula ossea, que se communicava com um «polmão», juxto-articular, e cujos vestigios nos rebordos da «casa» ainda se percebem. Bezerro N°. 125 Pelotas Estado do Rio Grande do Sul-1921.

Phot. N°. 47—O mesmo que o 46. O fio de metal indica, de cada lado o caminho da fistula ossea.

Phot. N°. 48 — Polmão experimental em coelho, inoculado, na parede do ventre, com cultura de *Diplococcus polmonis* variedade «b». Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, 1921.

Phot. N°. 49 — Peste dos polmões Fórma chronica, modalidade cutanea, grave. Córte de intestinos. Inflammação do typo diphtherico e hemorrhagico. Pseudo-membrana adherente. Oc. 1, Obj. DD. Zeiss.

Phot. N°. 50 — Outro aspecto da mesma photographia 49.

Phot. N°. 51 — Córte de intestinos da photographia 49, vista, com augmento fraco, e em conjuncto.

BIBLIOGRAPHIA.

1) NOCARD — Annales de l'Institut Pasteur, 1888, pag. 293.

2) LUSTIG — Malatti infective dell'homo e degli animali. 1915. V. 1, pag. 458.

3) HUTYRA u. MAREK. — Spezielle Pathologie u. Therapie der Haustiere. (Dritte Auflage.) Erster Band. 668—669—1910.

4) E. MACÉ — Traité pratique de bacteriologie. 1913. 6e edition. pag. 748.

5) LIGNIERES ET SPITZ — Contribution à l'étude des affections connues sous le nom d'actinomycose. Actinobacillose. Revista, de la Associaciòn medica Argentina. Buenos-Aires 1902.

6) E. MACE — Ob. cit. pag. 743. (1913).

7) G. BOUFFARD — Bulletin de la Societé de Pathologie exotique. T. XIII. 1920 No 6. pg. 398.

8) KOLLE u. WASSERMANN — Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 1913 B. V. pag. 362.

9) LIENAUX. — Ann. vét. 1905. pag. 297.

10) DE BLIECK ET BAUDET — Um bacillo importante como causa da pyosepticemia dos poldros. Analyse do Deutsche tieráerztliche Wochenschrift. 31 — Janeiro de 1920.

11) L. PANISSET: — La pyosepticemie des poulains nouveau-nés. Revue générale de Medécine Vétérinaire. T. XXIX, 15 mars 1920 pg. 119.

12) VRYBURG — Recueil de Medecine Vétérinaire T. LXXXIV—1907.

13) E. DIAS e M. LISBÖA — Revista de Veterinaria e Zootechnia — No 5. Outubro 1912. pag. 280.

14) MAGIR, R. G. ARCHIBALD — Recueil de Medecine Vétêrinaire. E. d'Alfort, 15 juin 1919, pag. 345.

15) G. CURASSON — Tropical Veterinary Bulletin. N. 2, 1919, vol. 7, pag. 81.

16) MASON, T. E. — Il Comp. Path. Therap. 1919, v. 32, Parte I, pag. 34 — 42.

17) G. PALLASSOLO — Peste dos Polmões. Tropical Veterinary Bulletin, n. 1, 1918, V. 6, p. 18.

18) G. PALAZZOLO — Nuove richerche sull'etiologia e sulla transmissione della peste de polmões o mal des polmões. Nuove Ercolani 1917 novem. 30, V. 22, pg. 317—322.

19) — Vide Brazil-Medico — Peste dos Polmões pelo DR. OCTAVIO MAGALHÃES.

20)	V. 8. pg. 154—30 Junho 1920. Abcesses plajes brasilian catles.
21) F. SIVOSI ET A. C. MARCHISOTTI	(La Plata). Gaceta rural 1917, transcripto Revue Général, de Medecine Veterinaire. T. XXIX. 15 Mars 1920 nº 339 pg. 151.
22)	The Journal of Experimental Medicine. V. XXX. Nº 1 July 1. 1919 pag. 39. Growth accessory substances for pathogenic Bacteria in animal Tissues. By I. J. Kigler. Ph. D.
23)	Annales de l'Institut Pasteur de Paris. M. 1919. Nº 5, pg. 215. A. Nègre et A. Boquet.
	Culture en serie et évolution chez le parasite de la lymphangite epizootique.
24) A. BESREDKA	Anaphylaxie et antianaphylaxie. 1917.
25) E. D. JOLTRAIN	Nouvelles methodes de séro—diagnostic. 1916.
26) J. CITRON	Immunidiagnostic u. Immunitherapie. Berlin, 1910.
27) G. POUCHET IVL.	1907 Pharmacologie et Matière Medicale. Pg. 813.
28) J. LIGNIERES	C. R. de la Societé de biologie 1919. 25—Octobre pag. 1091.
29) C. JONARE et A. STAUD.	Etude sur la Peste aviaire. Annales de l'Institut Pasteur. Mai Nº 5. T. XXXIV. 1920.
30) HIDEYO NOGUCHI	Etiology of yellow fever etc. The Journal of Experimental Medicine V. XXX. Nº 1. pg. 87. August 1919.
31) HIDEYO NOGUCHI	Idem, idem pg. 95.
32) HIDEYO NOGUCHI	Idem, idem, July 1. 1919 pg. 1.
33) Idem, idem	July, 1. 1919 pg. 13.
34) HANS ZINSSEN	Infection and resistance. 1918 pg. 59.
35) E. METCHINIKOFF	L'Immunité dans les maladies infectueuses 1901.
36) JULES BORDET	Traité de L'Immunité dans les maladies Infectieuses. I. vol. 1920.
37) CHAUVEAU et ARLOING	Anatomie Comparée des Animaux Domestiques. 1905. 2 vol.
38) Prof. G. FIUZI	La Clinica Veterinaria 15 de Novembre 1914 pag. 897 Su di um cazo di actinomicosi ganglionare—glandulare in un bovino.
39) LEVADITI	Le Leucocyte et ses granulations.
40) GILBERT et WEINBERG	1913. Traité du Sang. T. I. pag. 268 etc. etc.

41) LANGERON — Precis de Microscopie 1916 pg. 415.

42) JOSEF MAREK — Lehrbuch der klinischen Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere. Jena 1912. pg. 882 etc.

43) MACÉ — Traité pratique de Bacteriologie. pg. 894 – 898—1904.

44) LUSTIG — Ob. cit. Vol. 1. pag. 920.

45) KOLE U. WASSERMANN — Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen. 2e Aufl. 1912. pg. 235. Art. de P. Ulenhuth a L. Haendel.

46) ULENHUTH, HUBENER, XYLANDER U. BOHTZ — Untersuchungen uber das Wesen und die Bekämpfung der Schweinpest 1908. Berliu.

47) — Il Policlinico F. 27. Roma 5 luglio. 1920 pg. 691. V. XXVII. La diagnose di laboratori nel tifo esantematico. A. Abbruzzetti.

48) — Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique. Séance de 12 Novembre 1919. pag. 512. La reaction de Weil-Felix dans le typhus exanthématique. Faible pouvoir agglutinant du liquide chephalo-rachidien.

49) R. KRAUS — Estudios epidemiologicos. La Febrie Petequial (Typhus Exanthematicus sus focos americanos e su diagnostico). Revista del Instituto Bacteriologico. Marzo. 1919, Nº II. V. II. Buenos Aires.

50) A. L. FOURCARD — Reaction de Weil-Felix. Acquisition sur le typhus exanthematique. 1919. Presse Medicale. Nº 54. Jeudi 25. Septembre 1919 pg. 1548.

51) A. BESREDKA — De la vaccination contre les états typhoides par la voie buccale Annales de L'Institut Pasteur. Paris. T. XXXIII. 191. Nº 12. pag. 882. Decembre.

52) ARAGÃO. H. — Notas sobre os Ixodidos brasileiros. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. T. III Fas. II 1911.

53) ARAGÃO. H. — Revista do Museu Paulista. T. X. 1918.

54) C. ROHR. — Estudos sobre Ixodidas do Brasil. Trabalho do Instituto de Manguinhos 1909.

55) G. MOUSSU — Traité des Maladies du Brétail. 1911.

56) NOCARD et LECLAINCHE — Maladies microbiennes de Animaux. 1903.

57) SORILLON — Exemple des farcins dans les boeuf. Recueil de Medicine Vétérinaire. 1829 pg. 631.

58) COZZOLINO — Ein neues Fadenbacterium eine pseudoactinomykotische Erkrankung erzeugend. Zeitschrift f. Hygiene T. XXXIII. 1900. pg. 36.

59) M. LETULLE L. NATTAN-LARIER. Precis d'Anatomie Pathologique, Paris, 1912, 2 vols.

60) G. ROUSSY et BERTRAND Travaux pratiques d'Anatomie pathologique. etc. 1917, 1 vol.

61) E. KAUFMANN Tratato di Anatomia Pathologica Speciale, 1913, 2 vols.

62) PROF. TH. KITT Allgemeine Pathologie fur Tierarzte 1908, 1 vol.

63) PROF. DR. TH. KITT Lehrbuch der pathologischen Anatomie der Haustiere. 1910, 2 vols.

64) MALLORY Principles of Pathologic Histology 1914.

65) CHANTEMESSE et PODWYSSOTSKY Les processus généraux. 2 vol. 1901.

NOTA.

A' synonimia, citada no começo deste trabalho, podemos juntar mais as seguintes: denominações «febre dos pantanos», «entequê», «septicemia multiforme», etc.

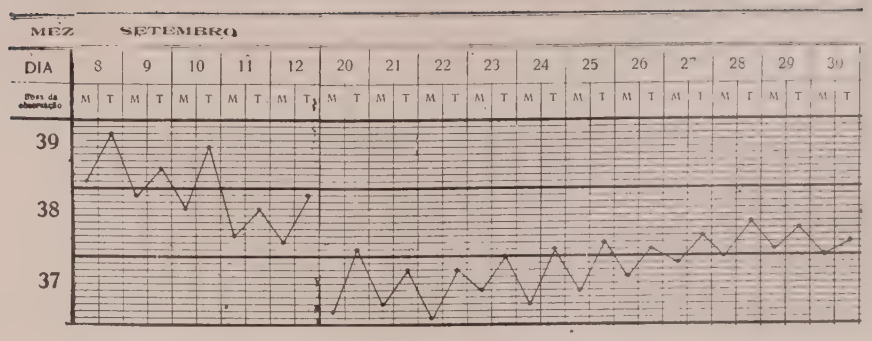
Desejamos tambem chamar as vistas dos pesquisadores para o facto experimental agora realizado.

Foi só após a grande panzootia de 1919, que chegamos a unificar, numa mesma syndrome clinica — as fórmas chronicas e a fórma aguda da molestia.

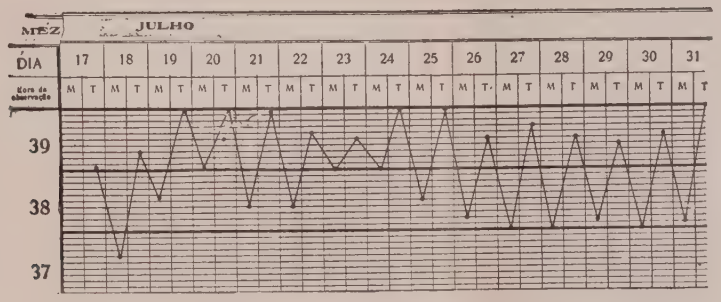
Conseguiramos, experimentalmente, transformar uma fórma aguda numa fórma chronica, e vice-versa. Conseguiramos transformar uma modalidade cutanea em toxica, e vice-versa. Partindo de uma fórma chronica, modalidade cutanea, (peste dos polmões — propriamente dita) chegáramos á fórma chronica, modalidade intestinal. (diarrheas, cursos, pneumo-enterite, etc).

Faltava uma prova—a ultima; transformar uma pneumo-enterite, pura, classica em «peste dos polmões» tambem pura. Conseguimos esta demonstração agora, trabalhando com um virus de pneumo-enterite dos bezerros, já anteriormente experimentado (com resultados positivos) pelo Prof. MARQUES LISBOA.

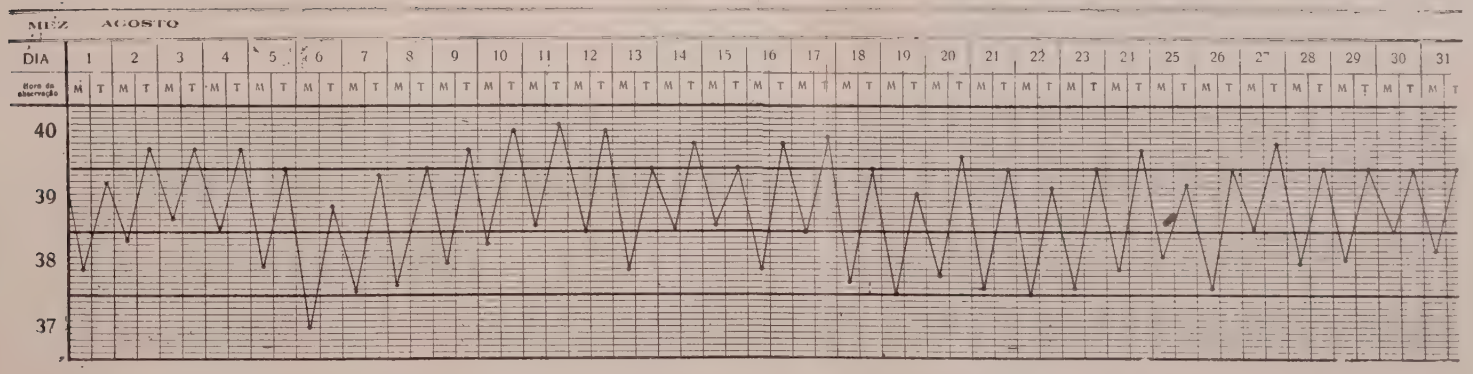
Traçado n. 34



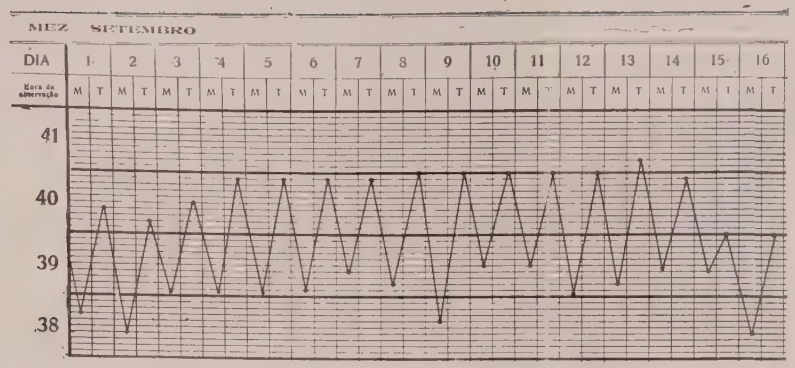
Traçado n. 34



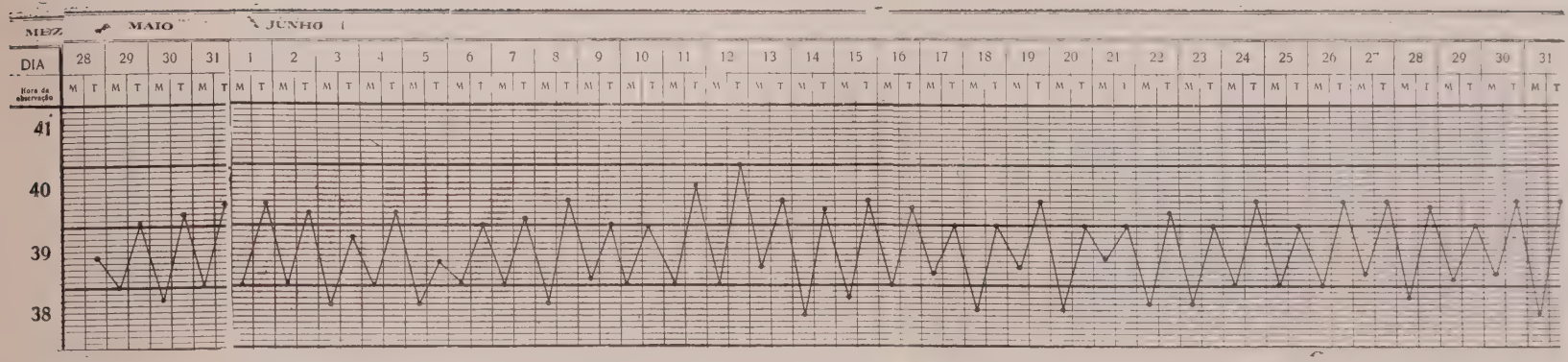
Traçado n. 80



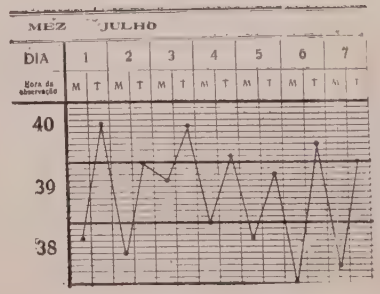
Traçado n. 80



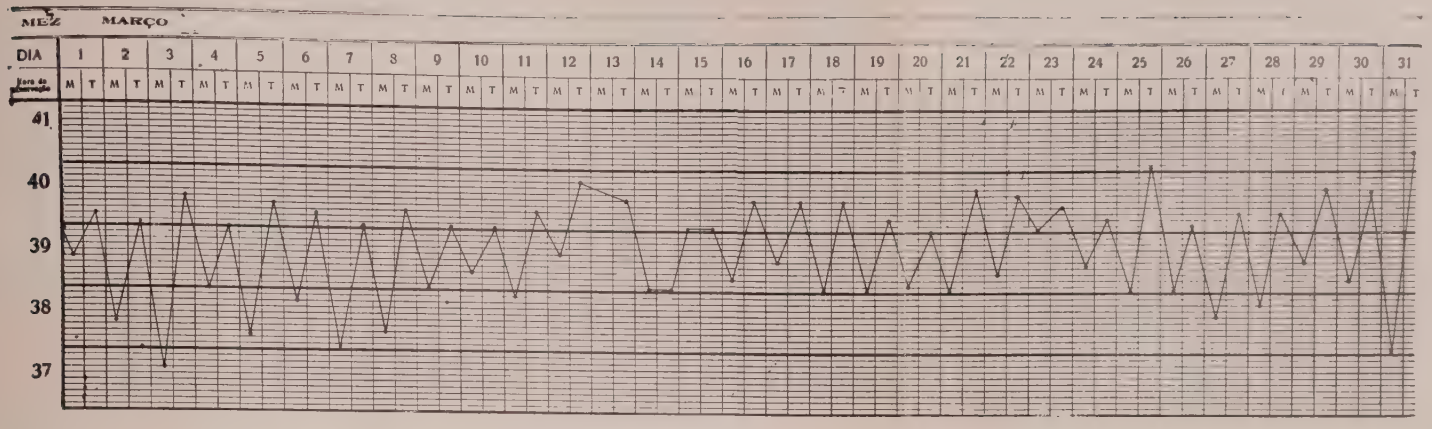
Traçado n. 80



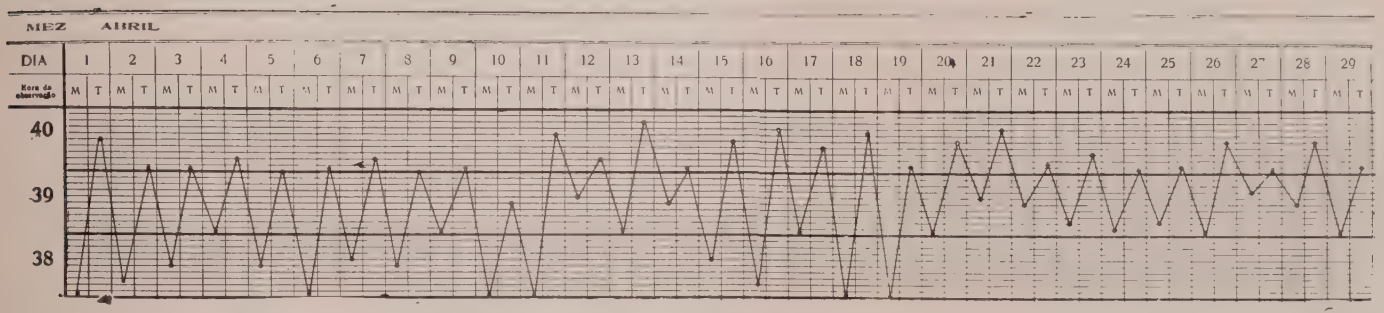
Traçado n. 75



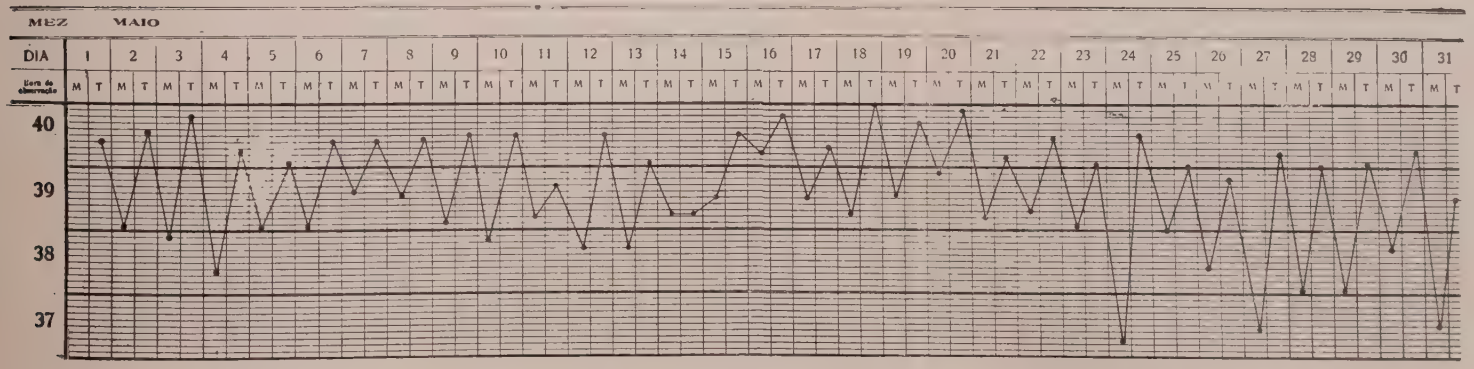
Traçado n. 75



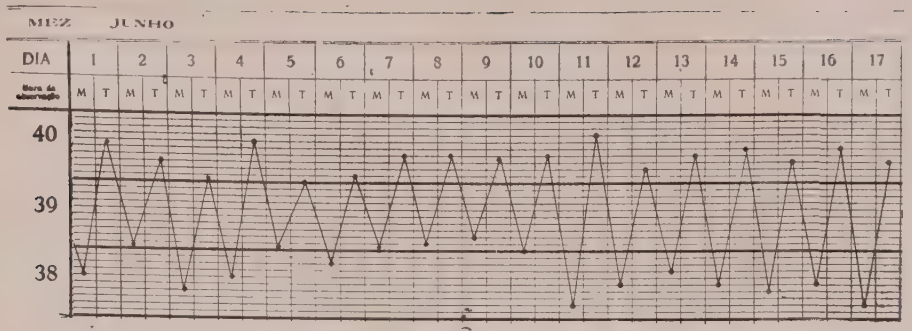
Traçado n. 68



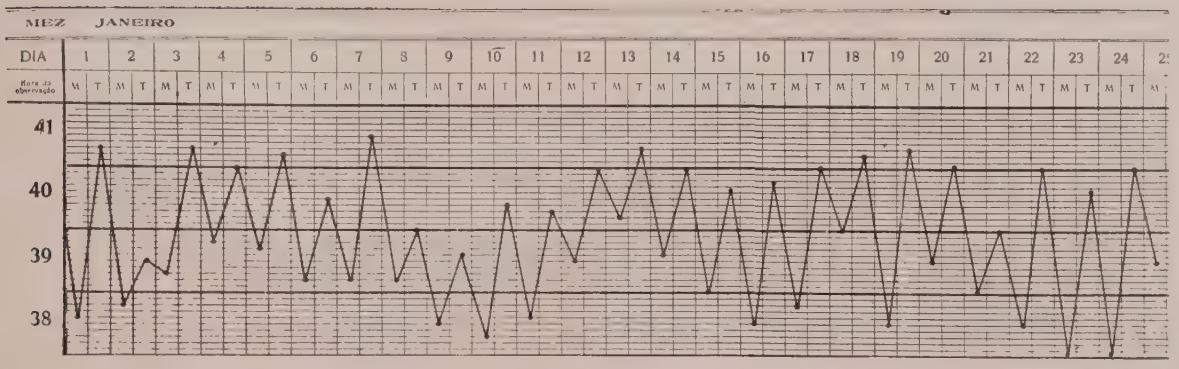
Traçado n. 68



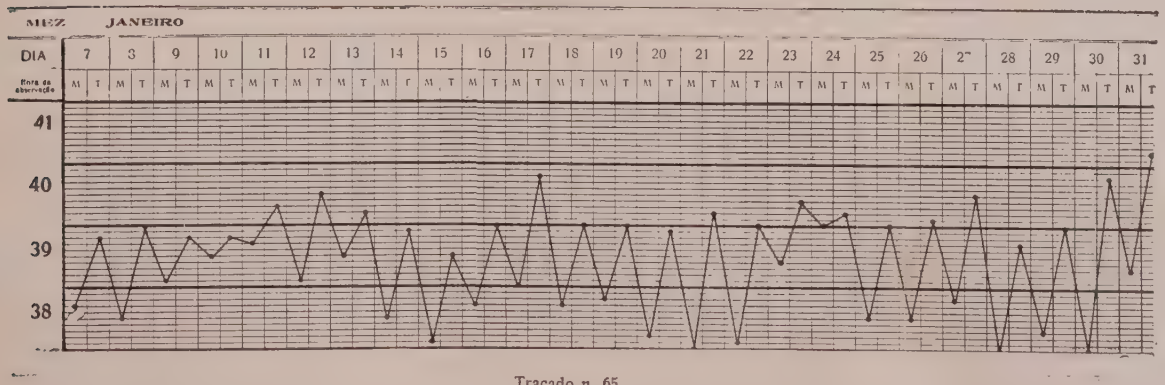
Traçado n. 68



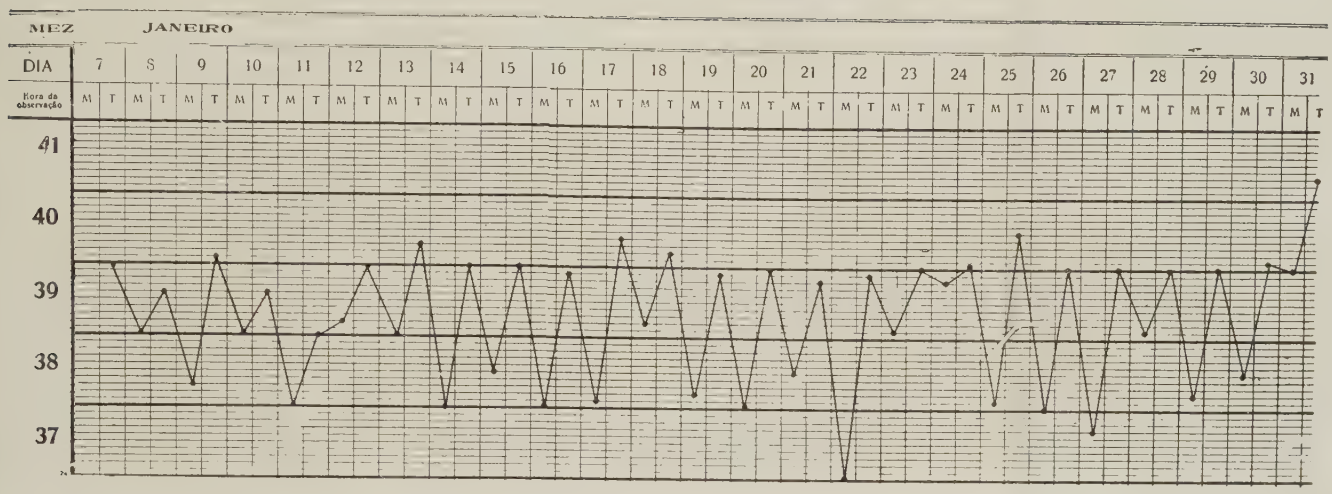
Traçado n. 68



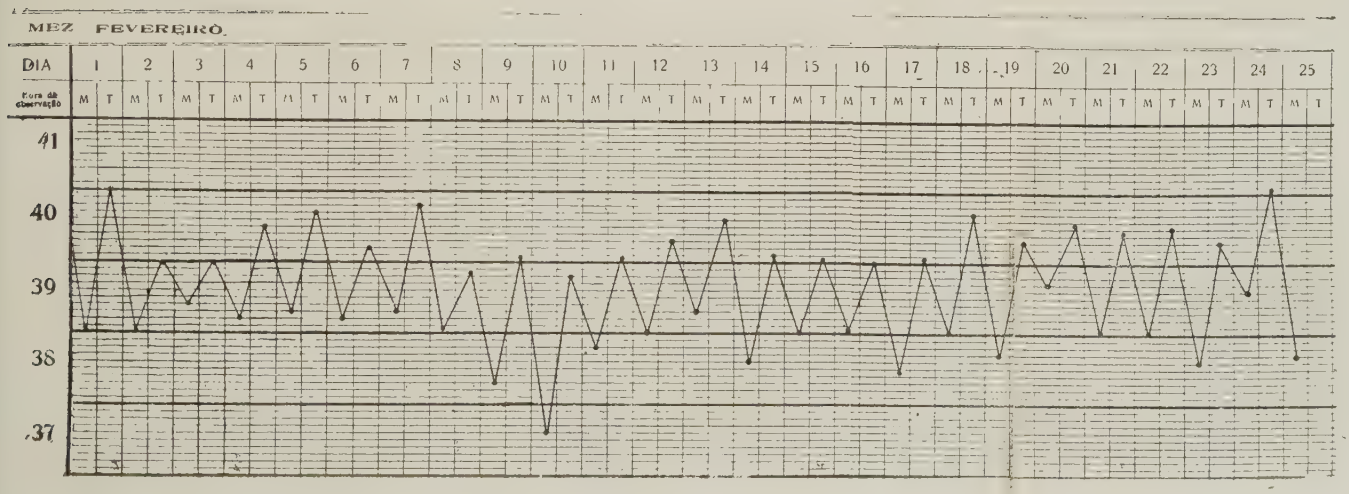
Traçado n. 65



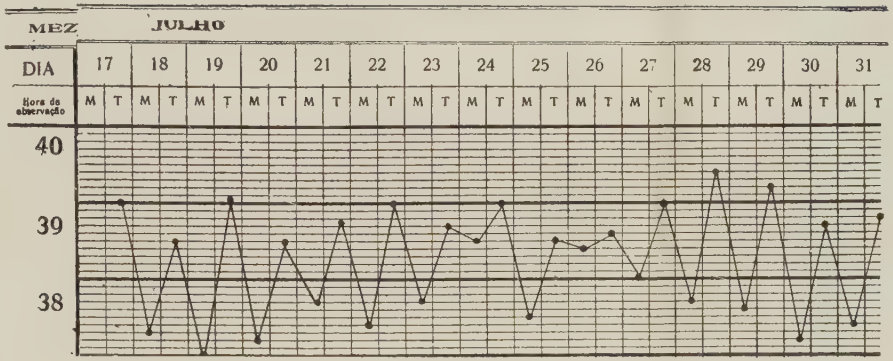
Traçado n. 65



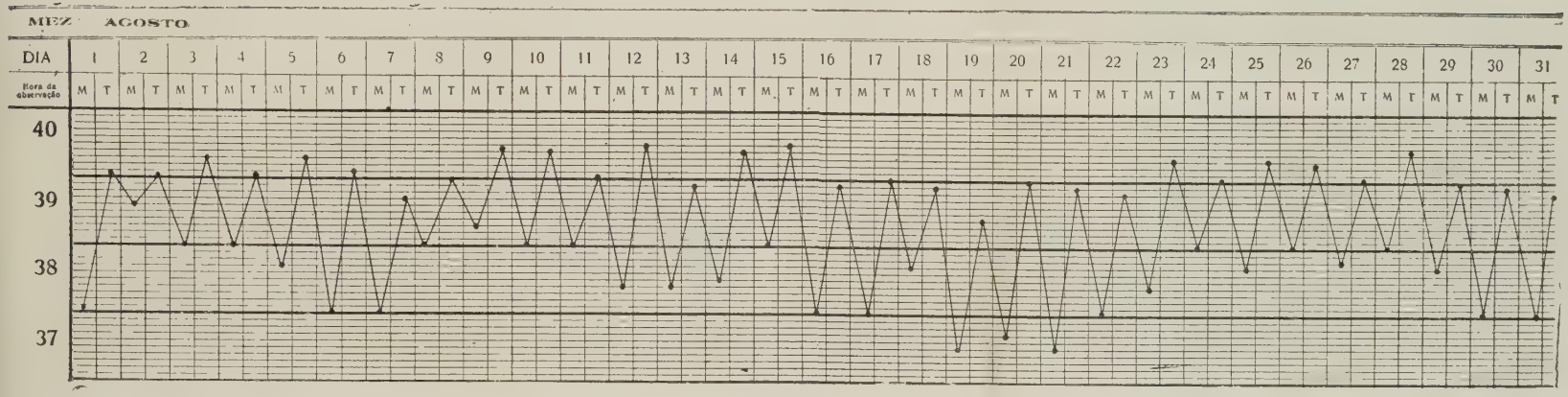
Traçado n. 63



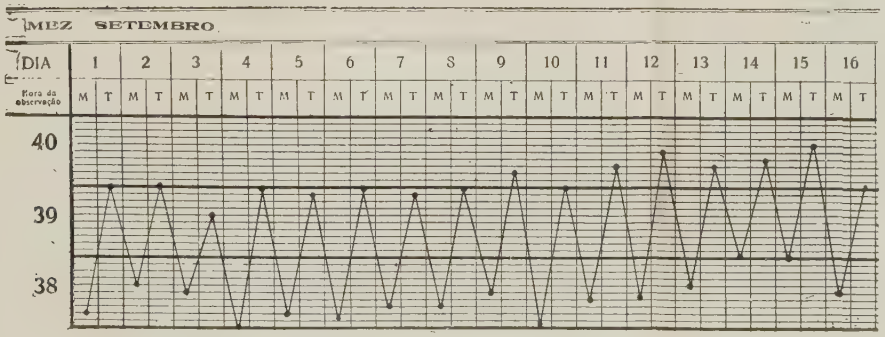
Traçado n. 63



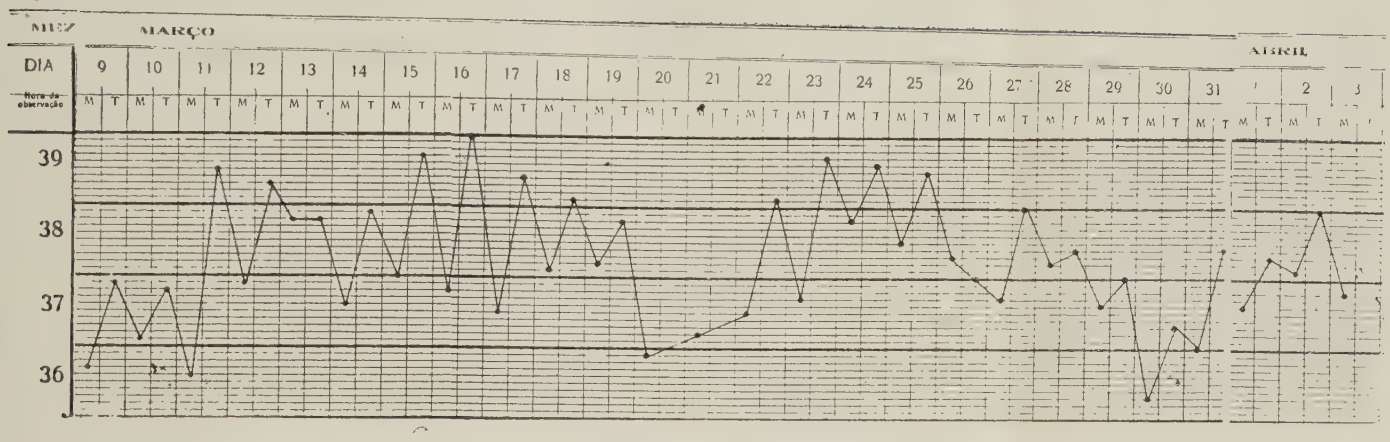
Traçado n. 79



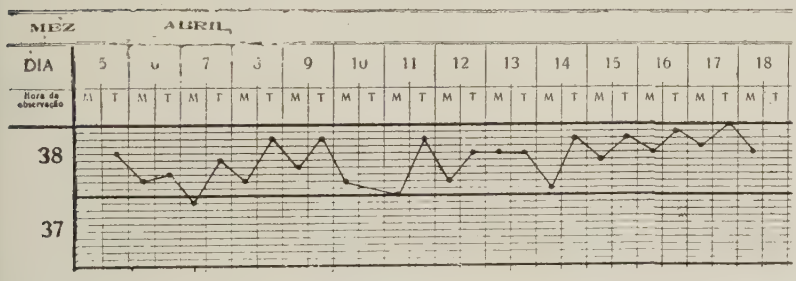
Traçado n. 79



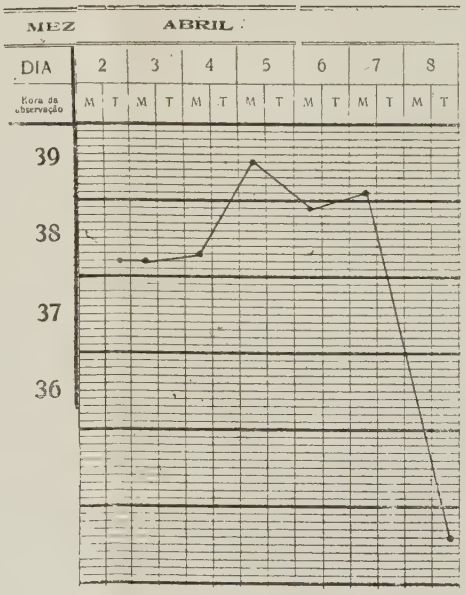
Traçado n. 79



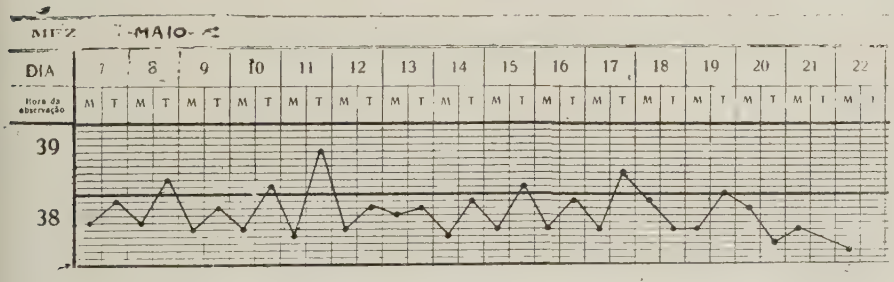
Traçado n. 2 P.



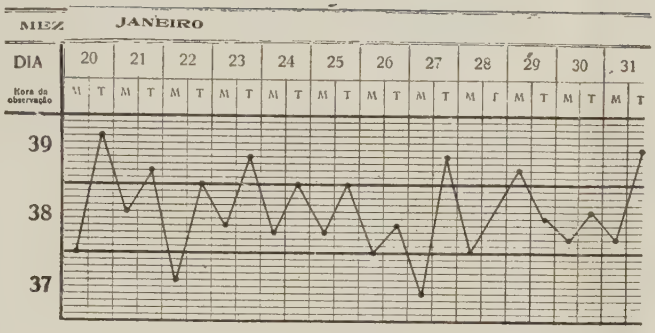
Traçado n. 3



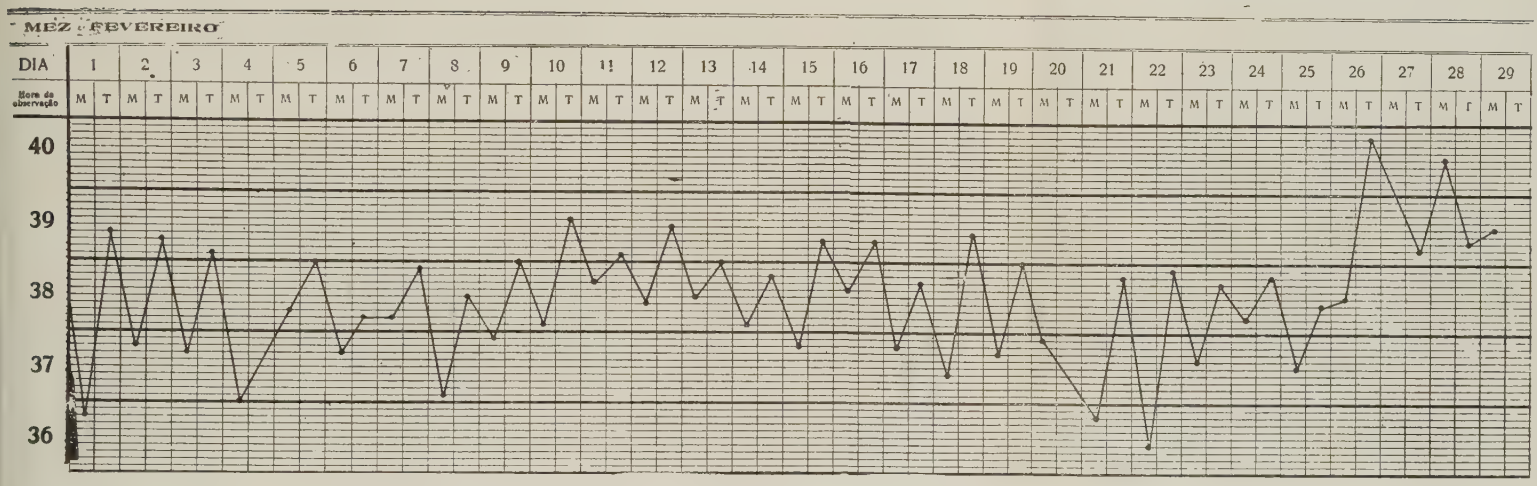
Traçado n. 17



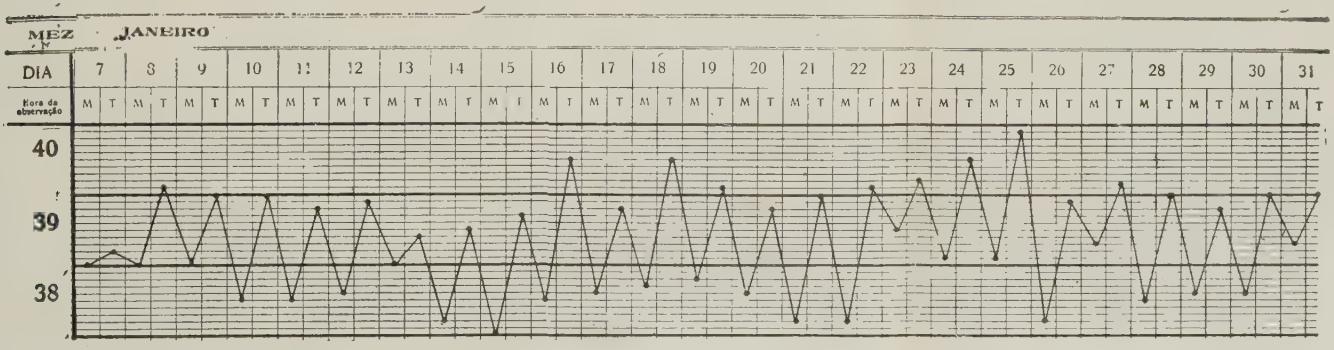
Traçado n. 16



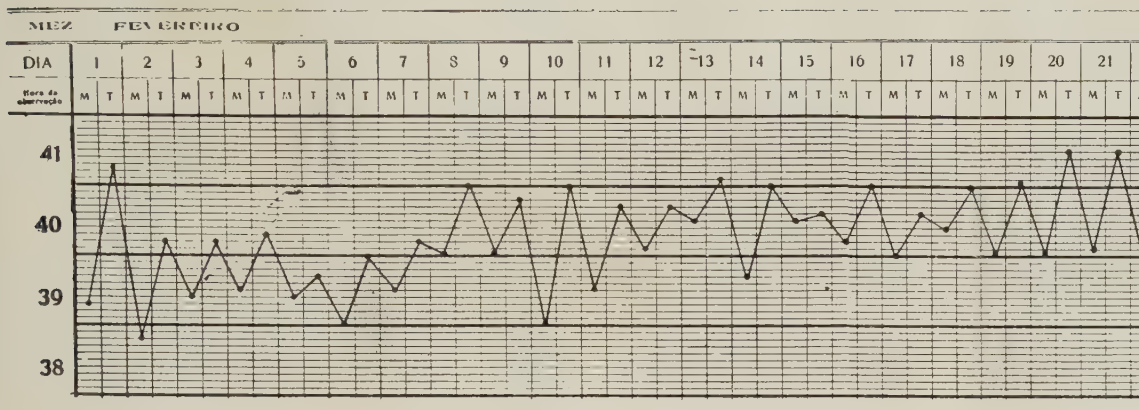
Traçado n. 11 P



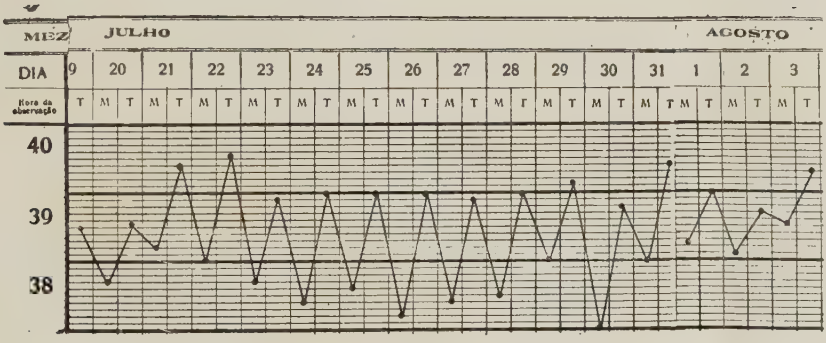
Traçado n. 11 P



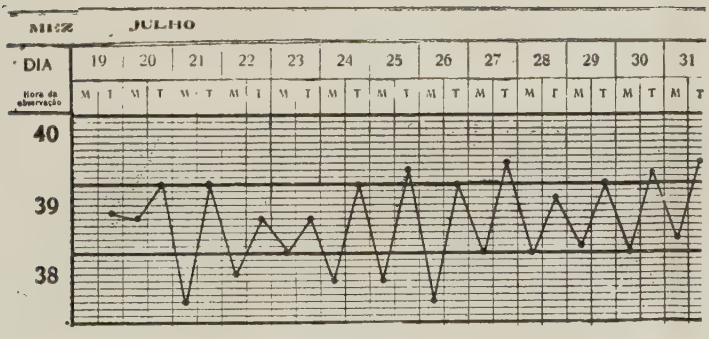
Traçado n. 64



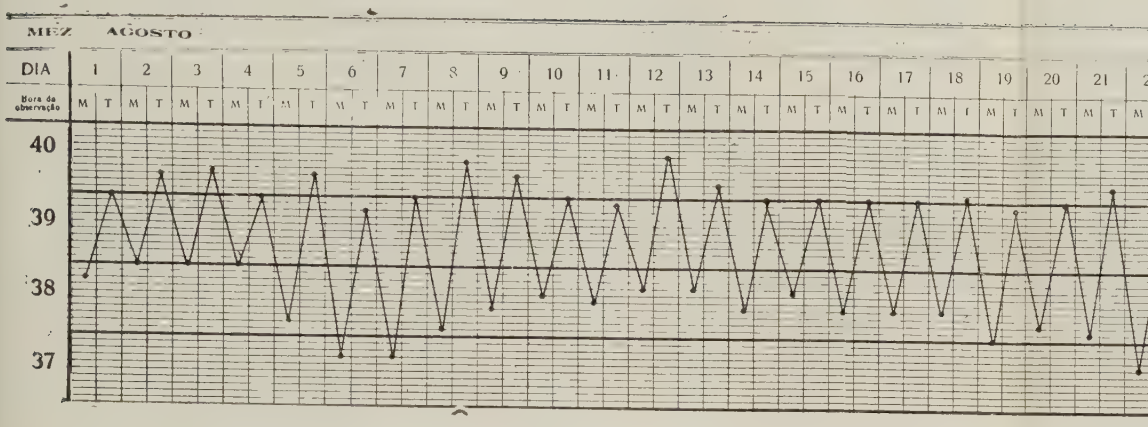
Traçado n. 64

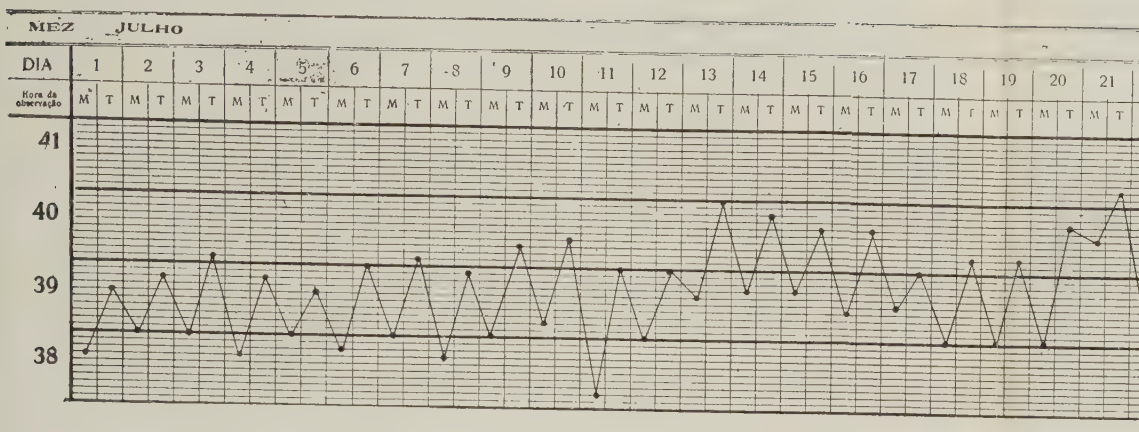


Traçado n 89

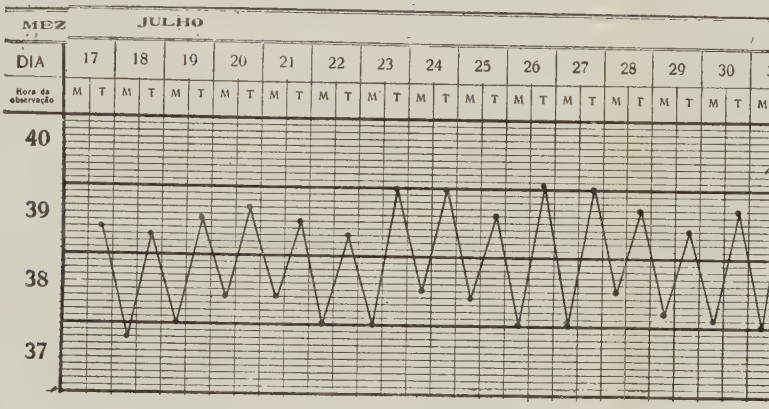


Traçado n. 90

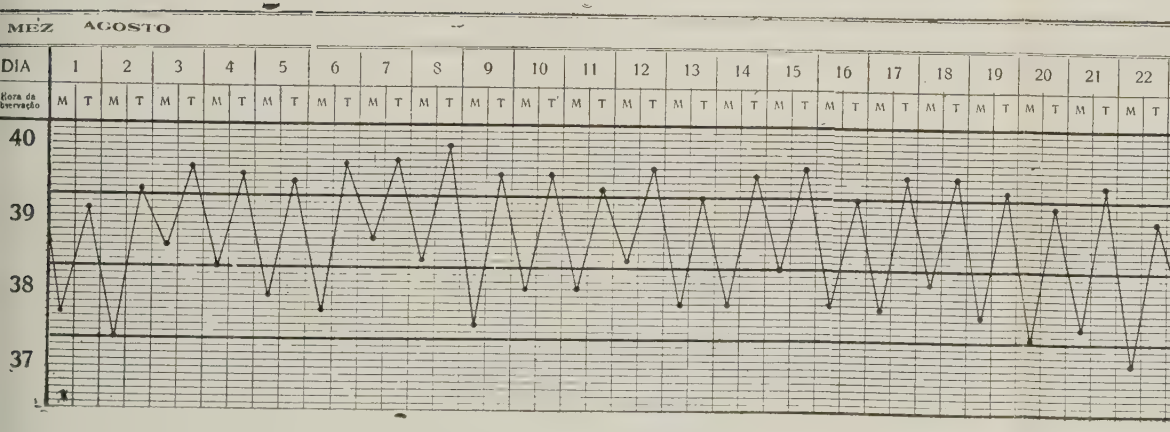

MEZ AGOSTO
DIA
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21
Hora da observação
M T M T M T



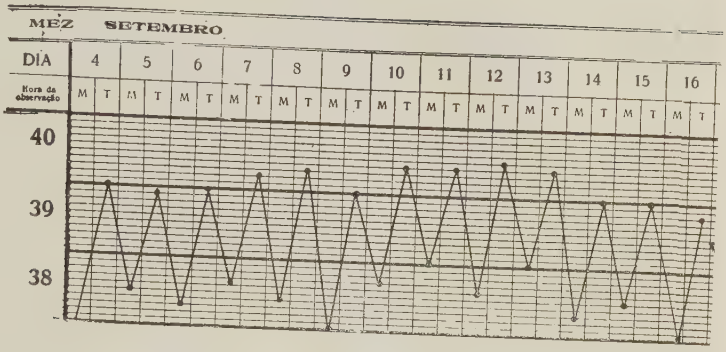
Traçado n. 77



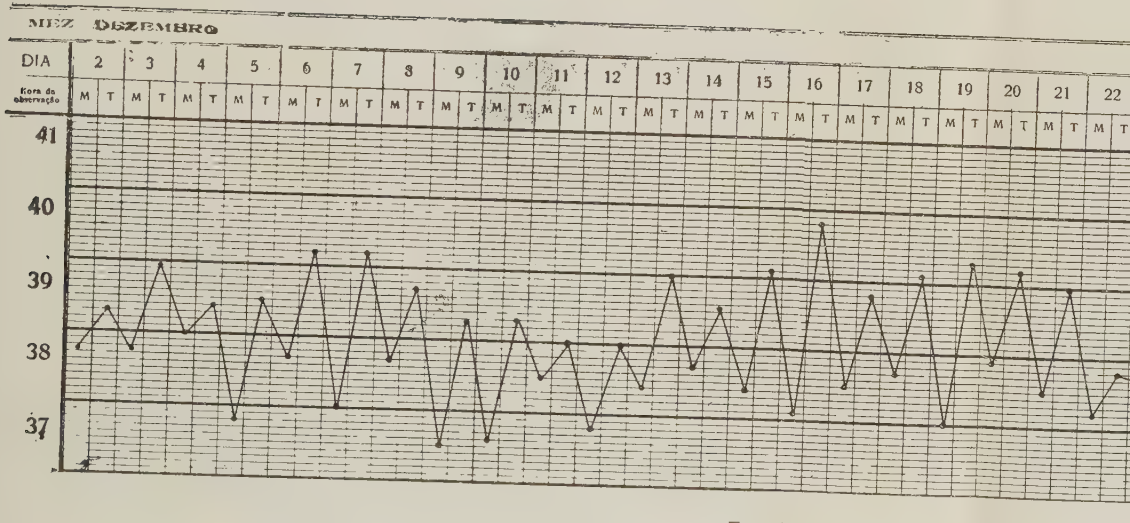
Traçado n. 82

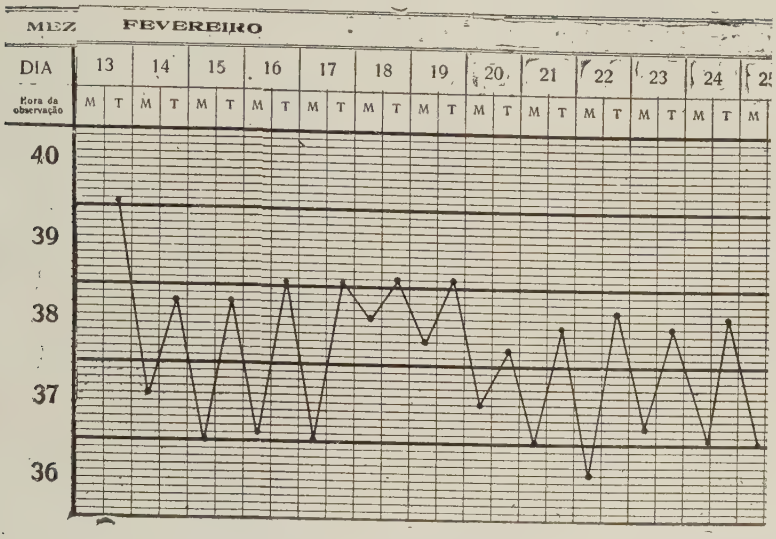


Traçado n. 82

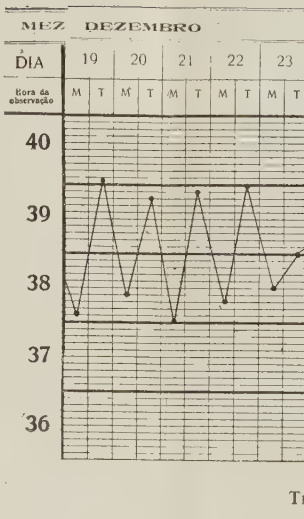


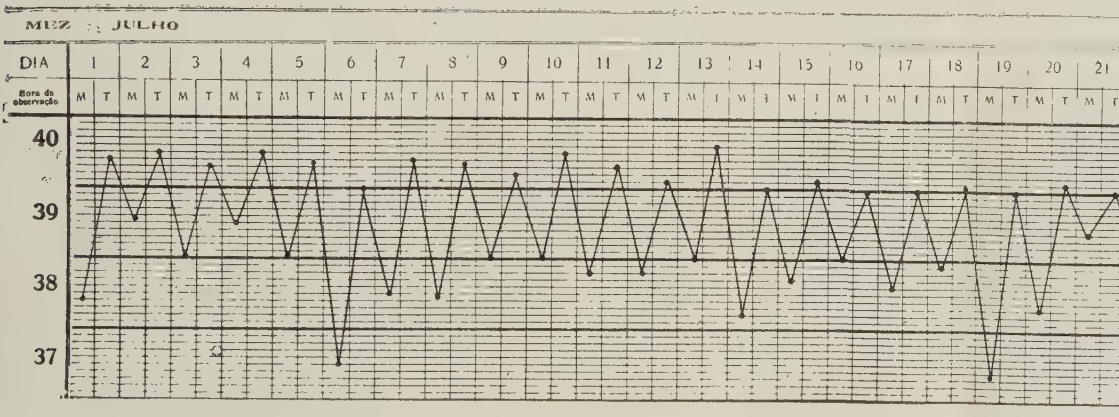
Traçado n. 82


MEZ DEZEMBRO
DIA
2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22
Hora da observação
M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T

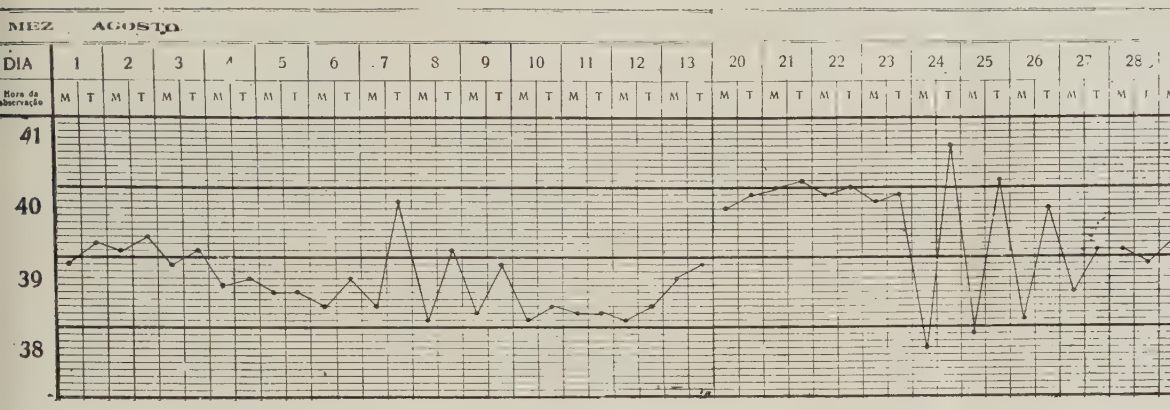


Traçado n. 1

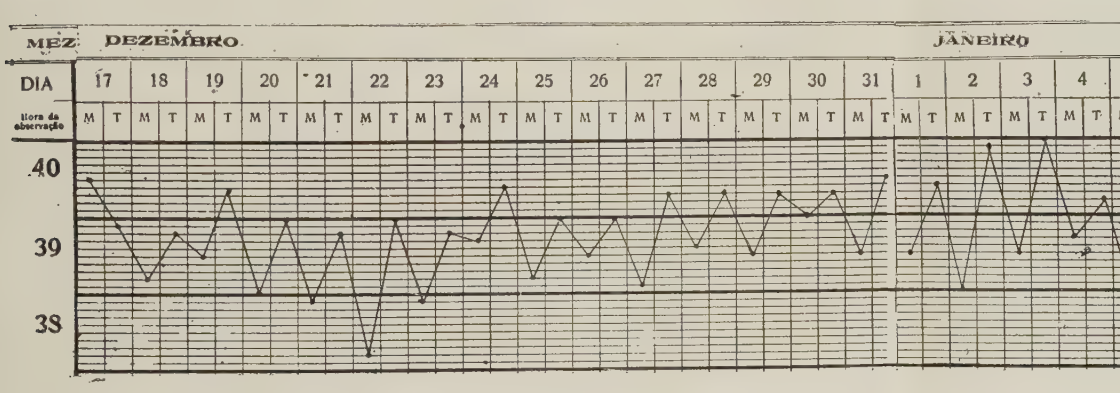




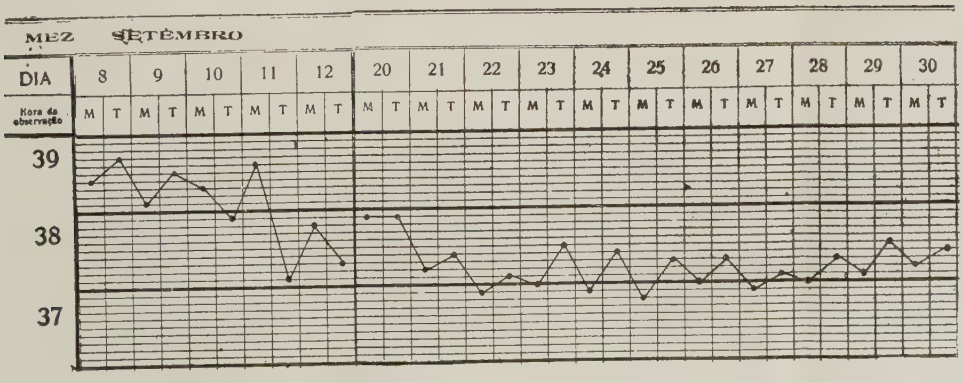
Traçado n. 73



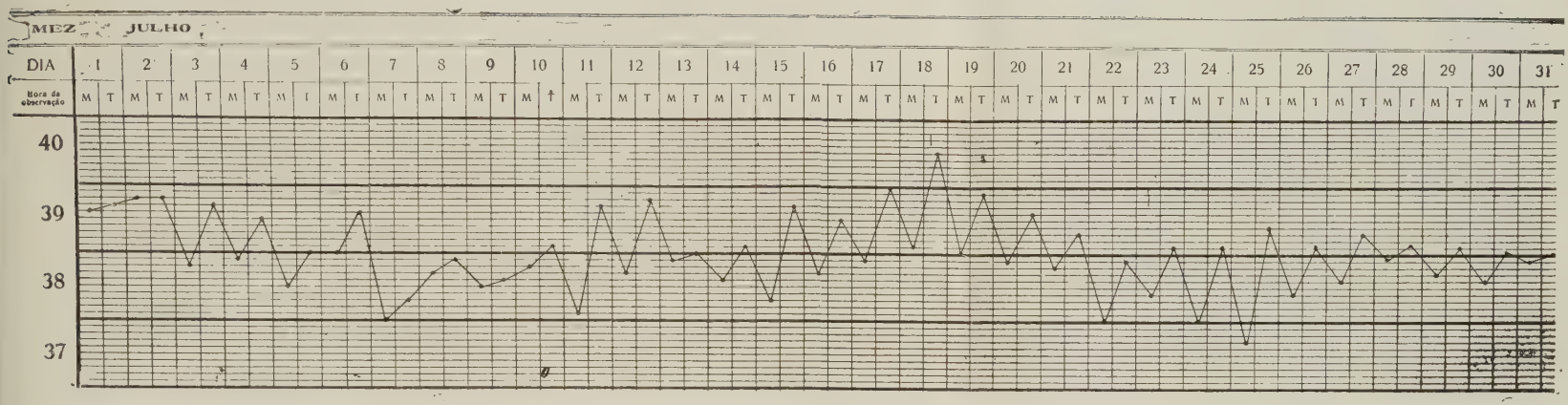
Traçado n. 14



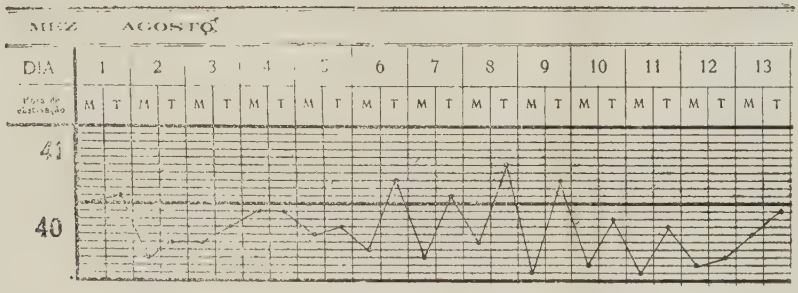
Traçado n 61



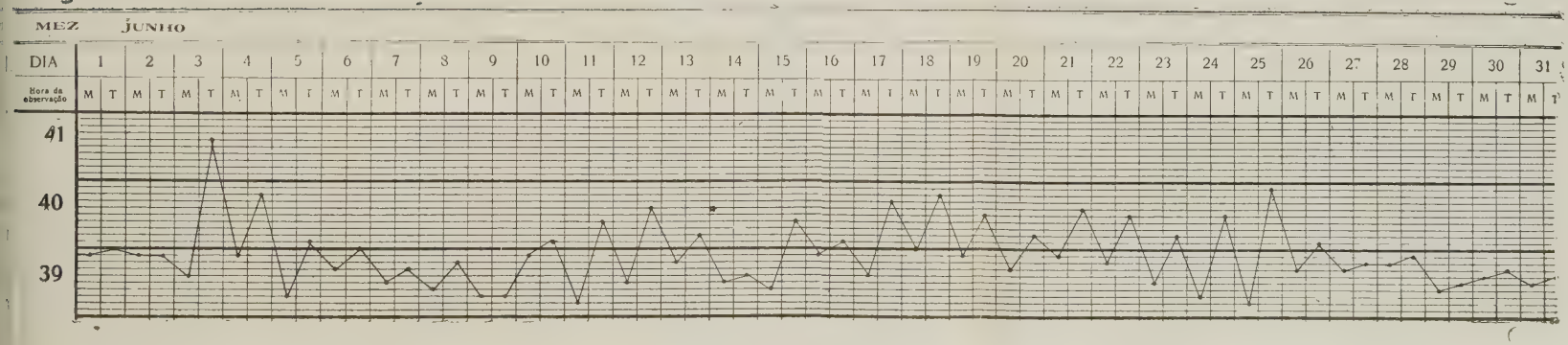
Traçado n. 32



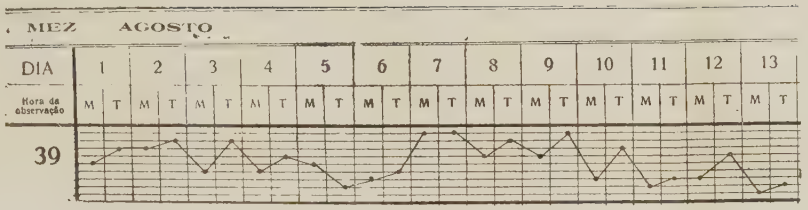
Traçado n.º 23



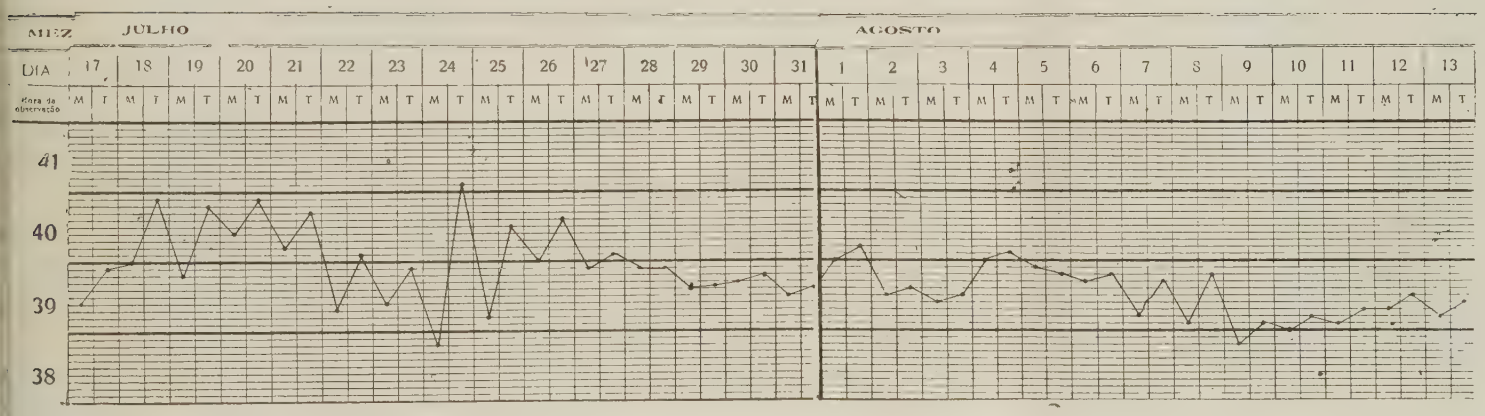
Traçado n. 23



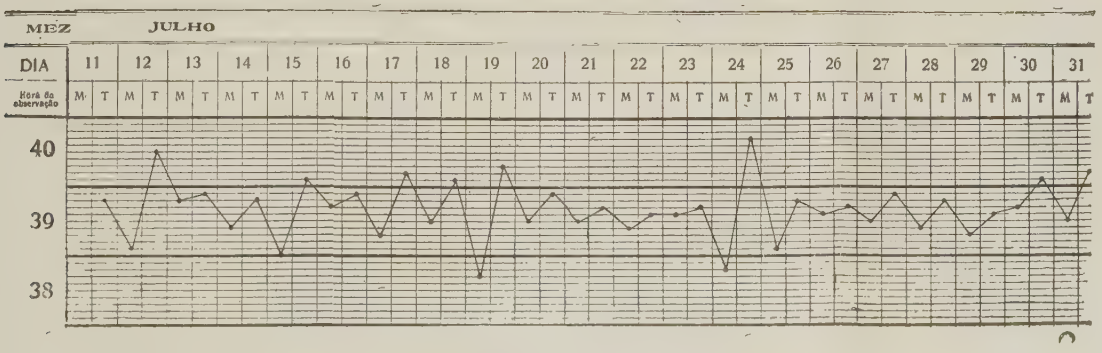
Traçado n. 13 B



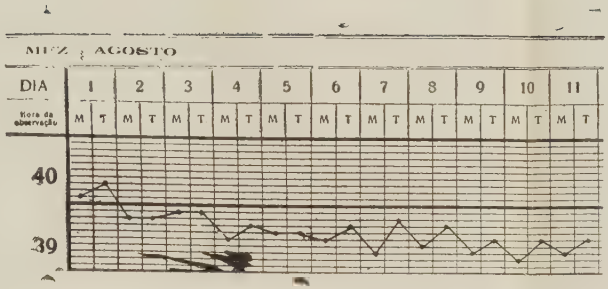
Traçado n 13 B



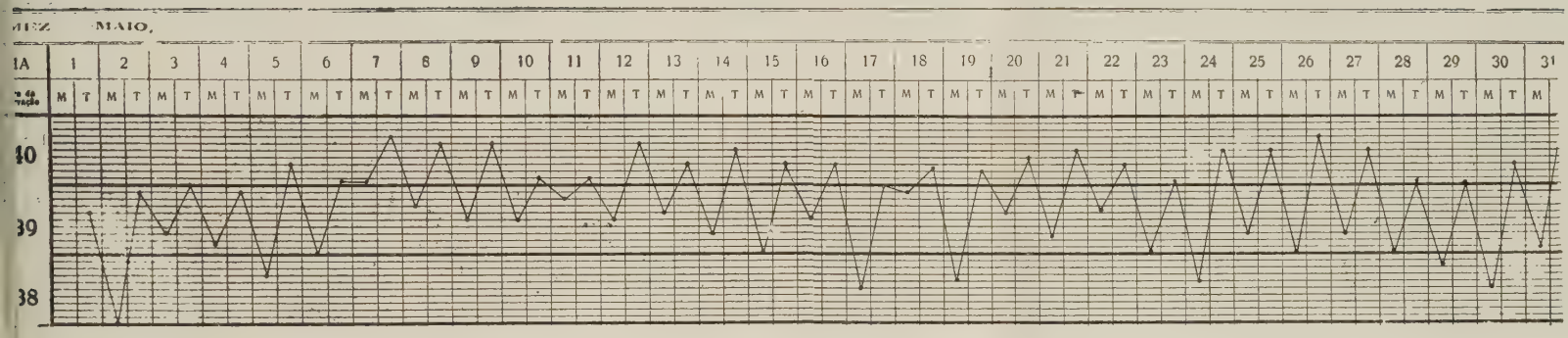
Traçado n. 12



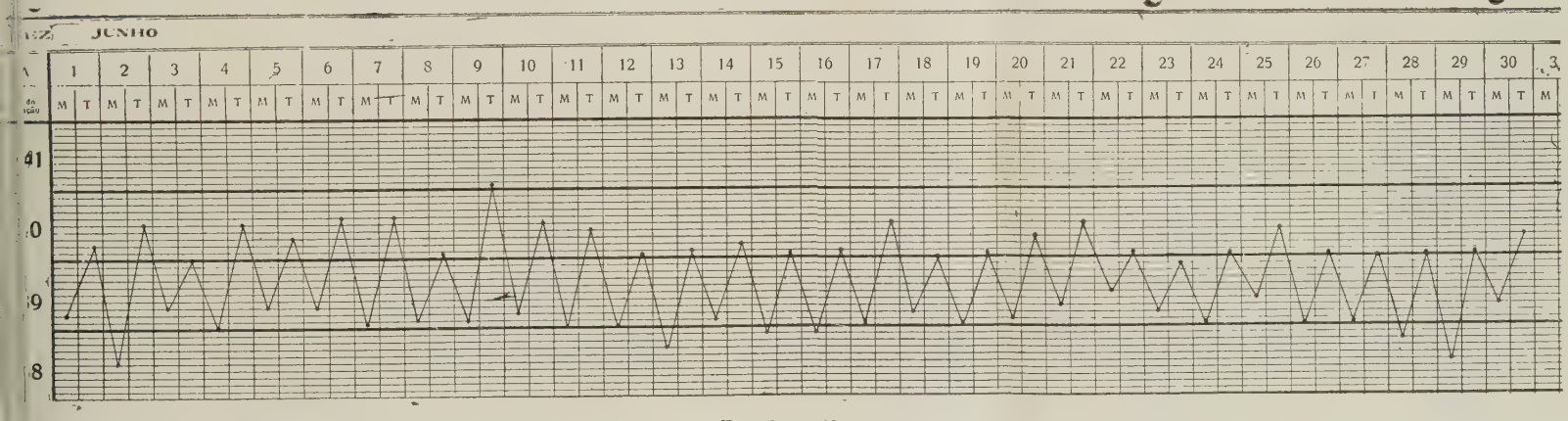
Traçado n. 9



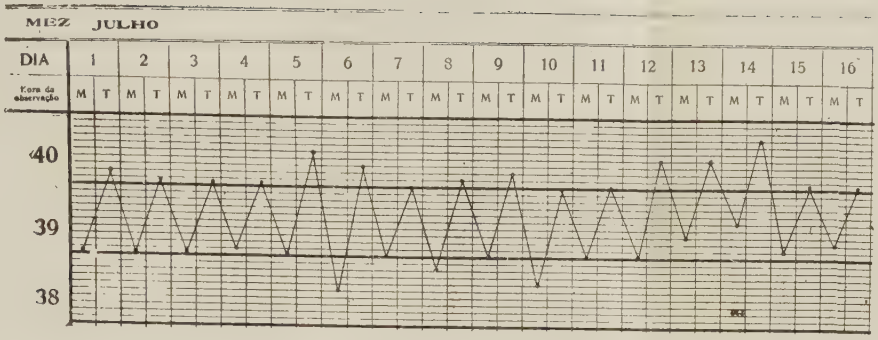
Traçado n. 9



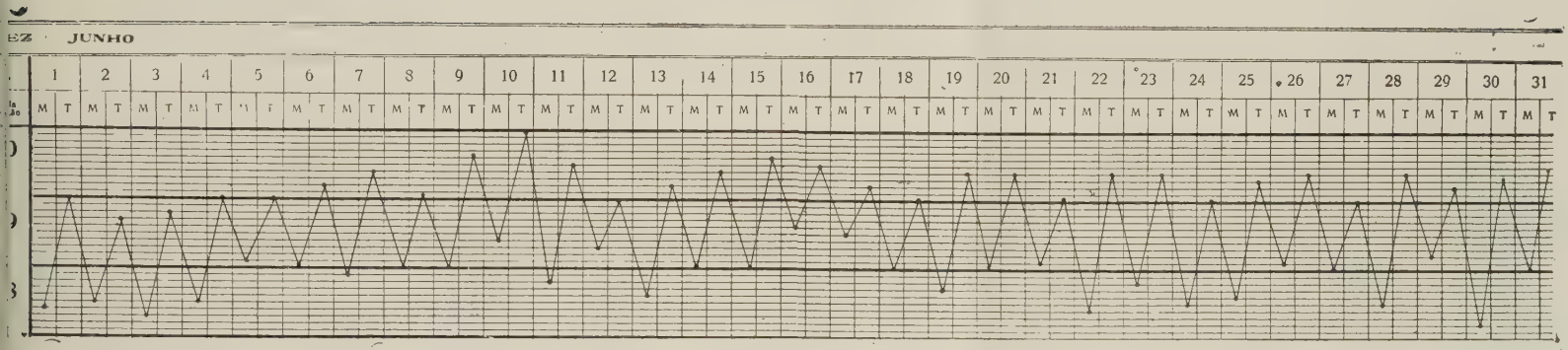
Traçado n. 13

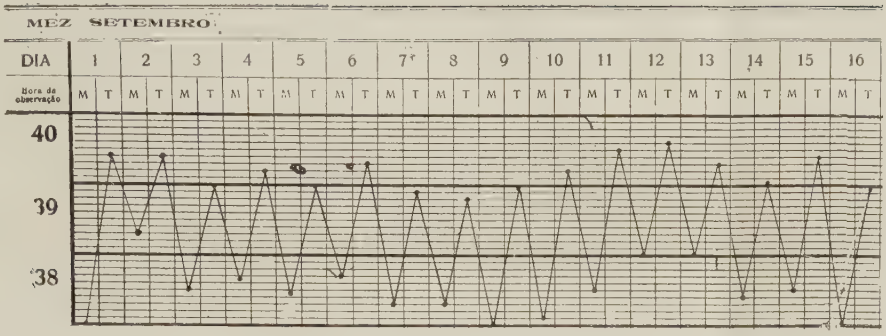


Traçado n. 13

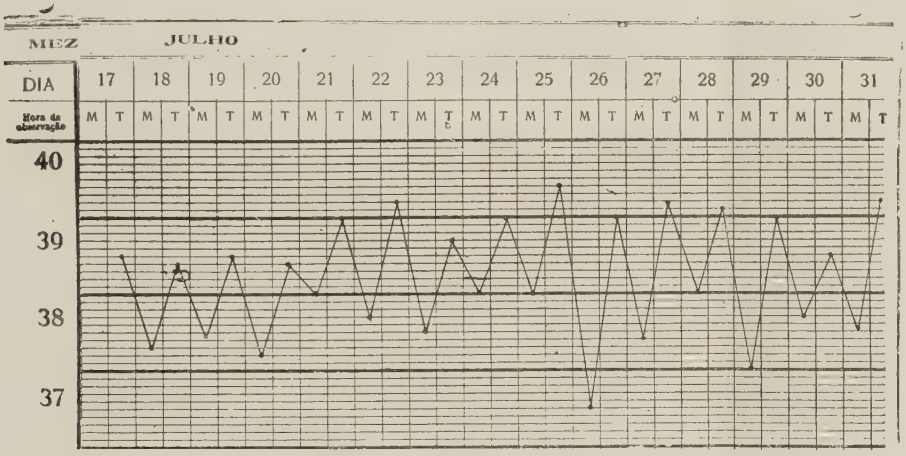


Traçado n. 13

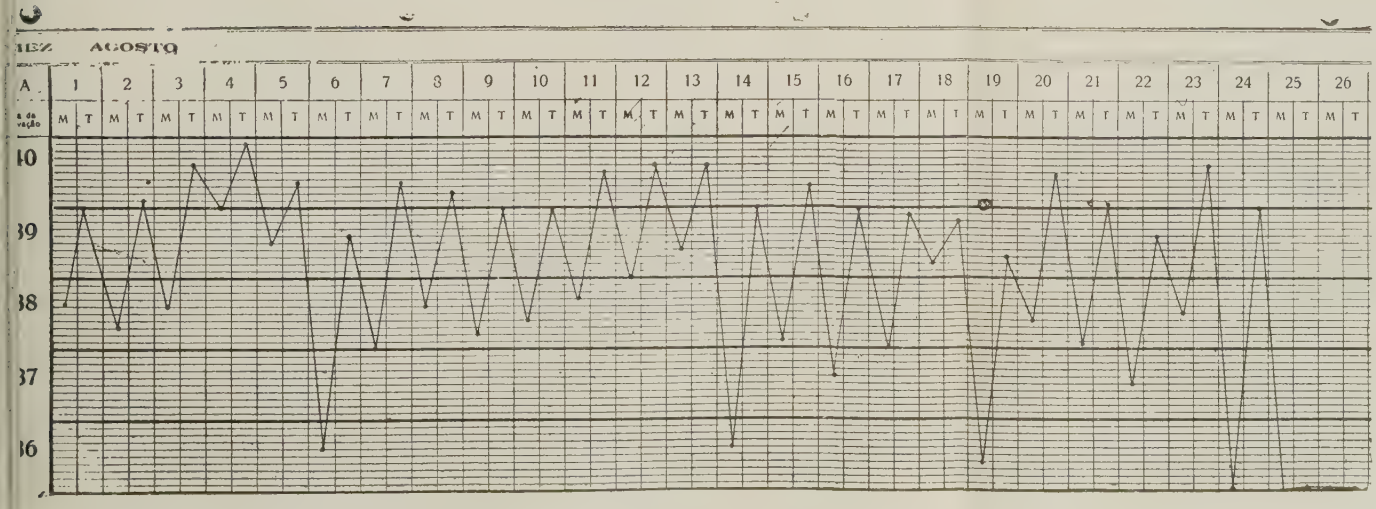

JUNHO
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T M T



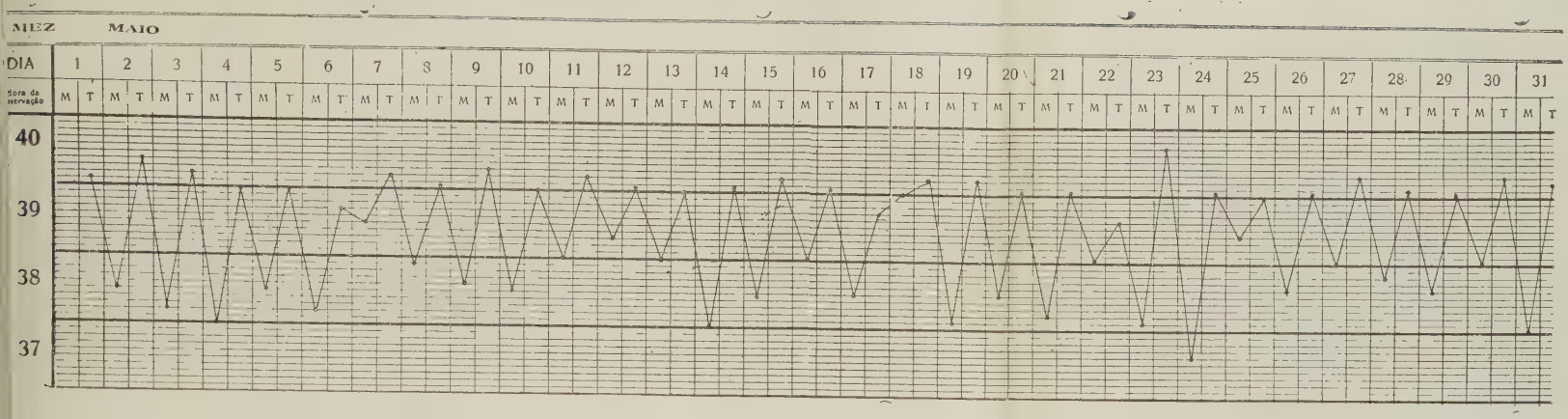
Traçado n. 74



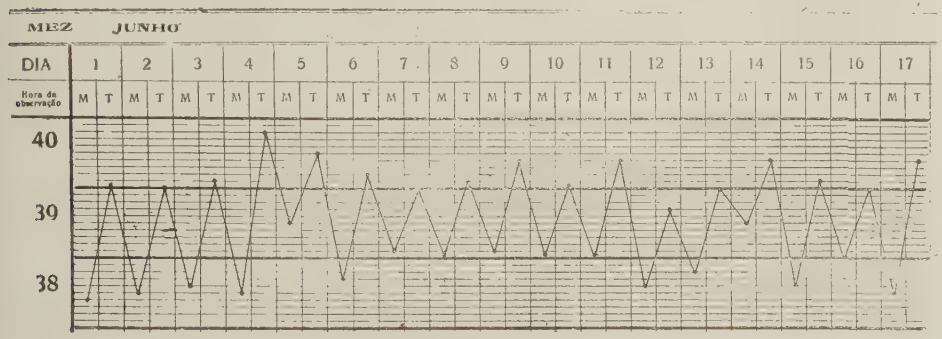
Traçado n. 86



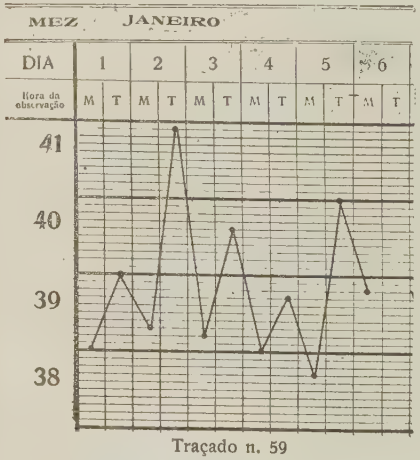
Traçado n. 86



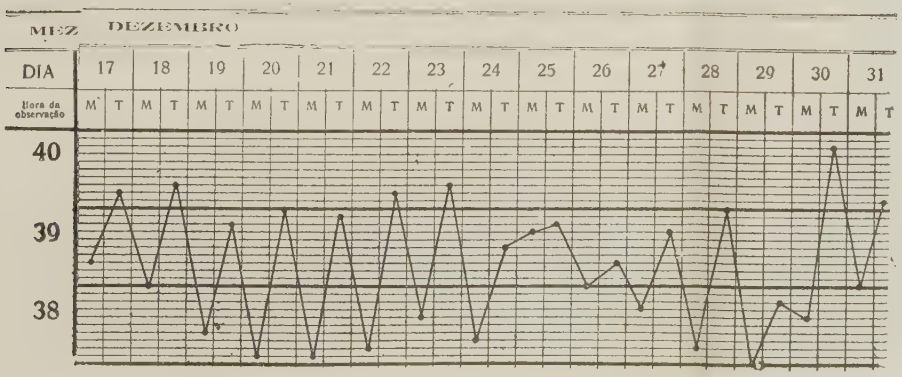
Traçado n. 27



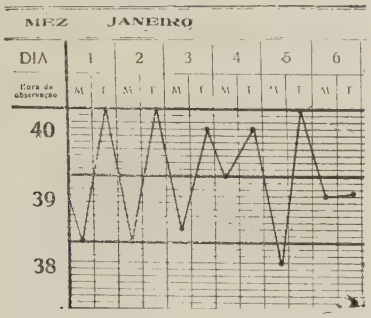
Traçado n. 27



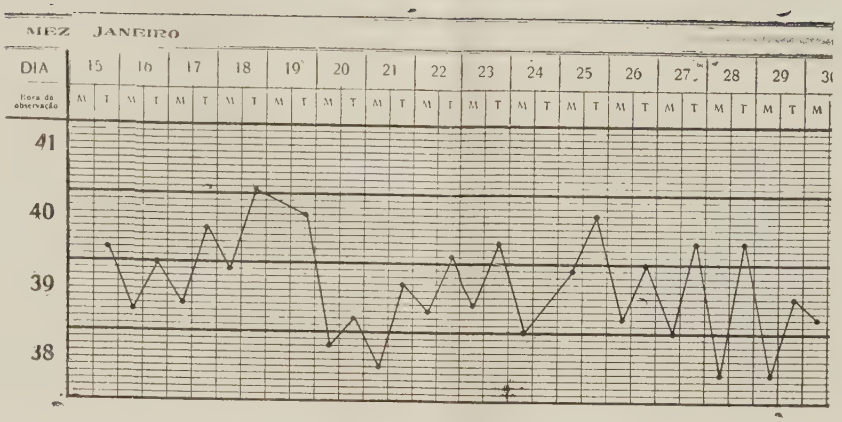
Traçado n. 59



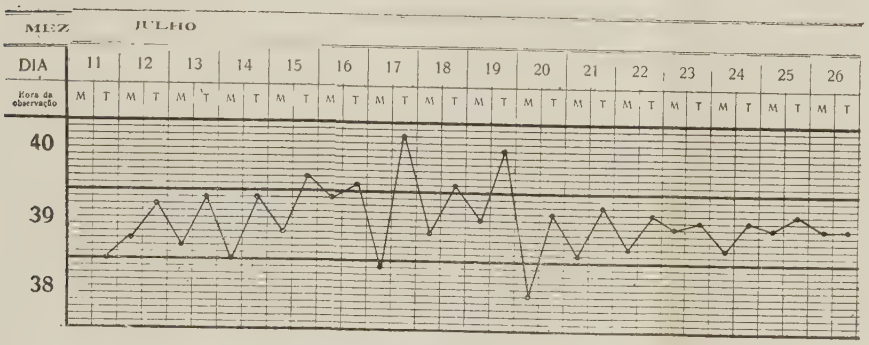
Traçado n. 59



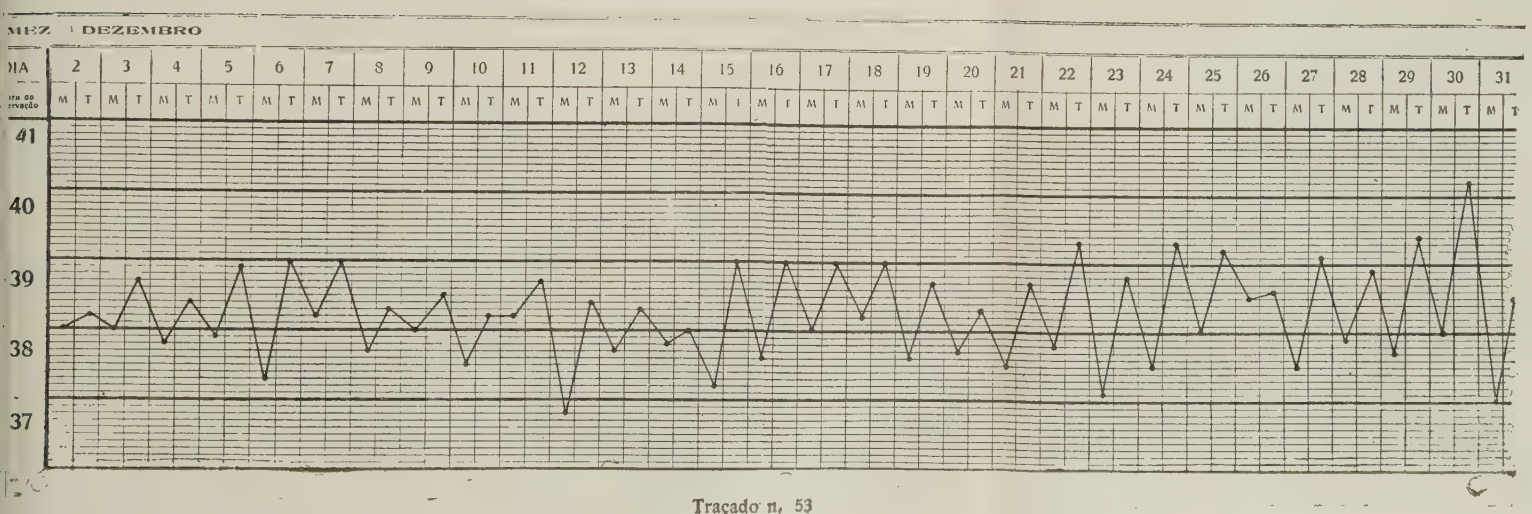
Traçado n. 58



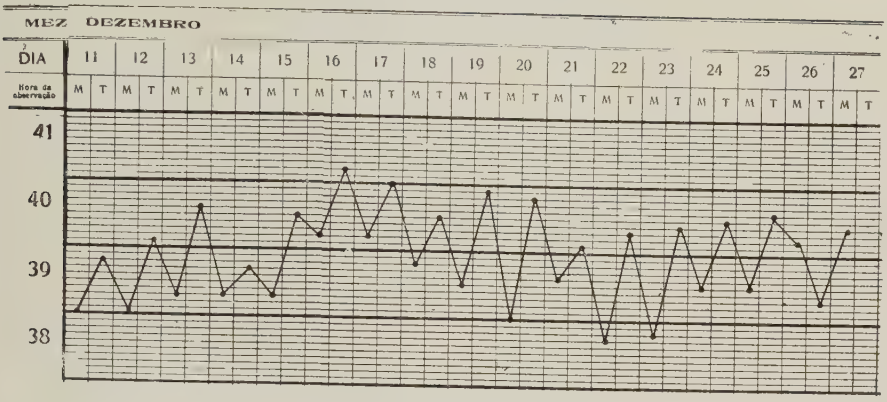
Tracado n. 39



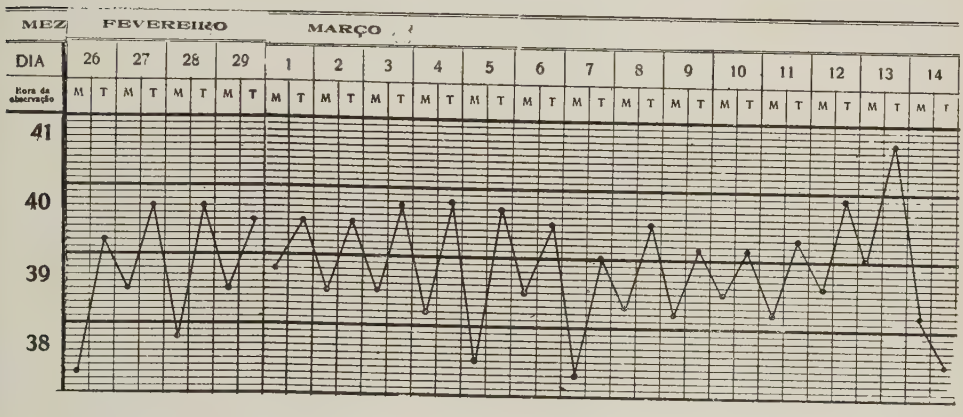
Traçado n. 10



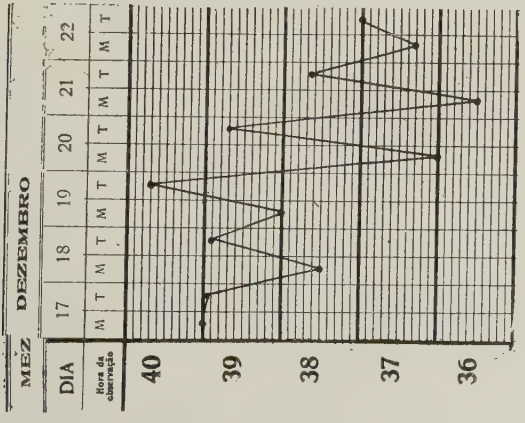
Traçado n. 53



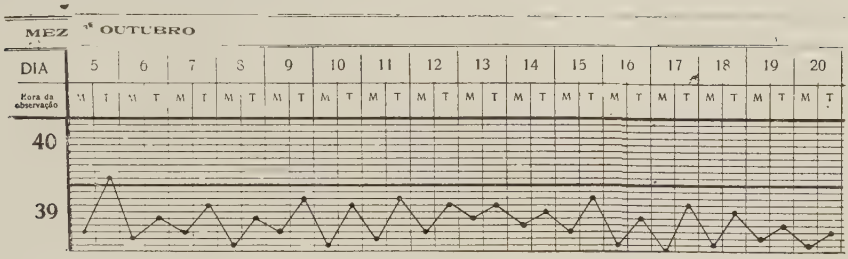
Traçado n. 55 A



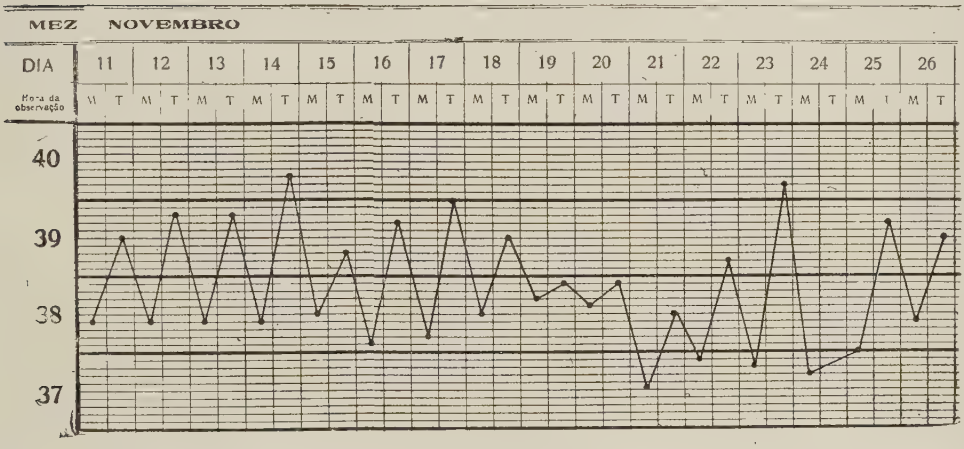
Traçado n. 67



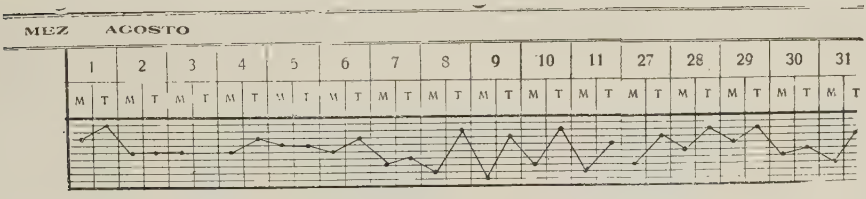
Traçado n. 62



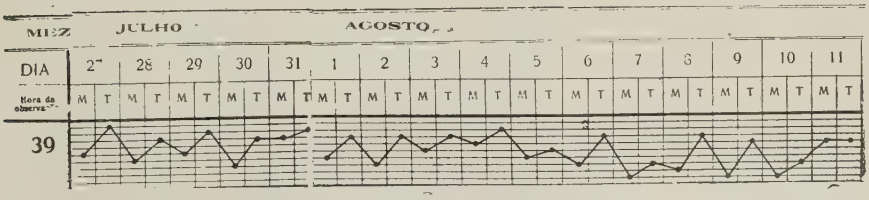
Traçado n. 26



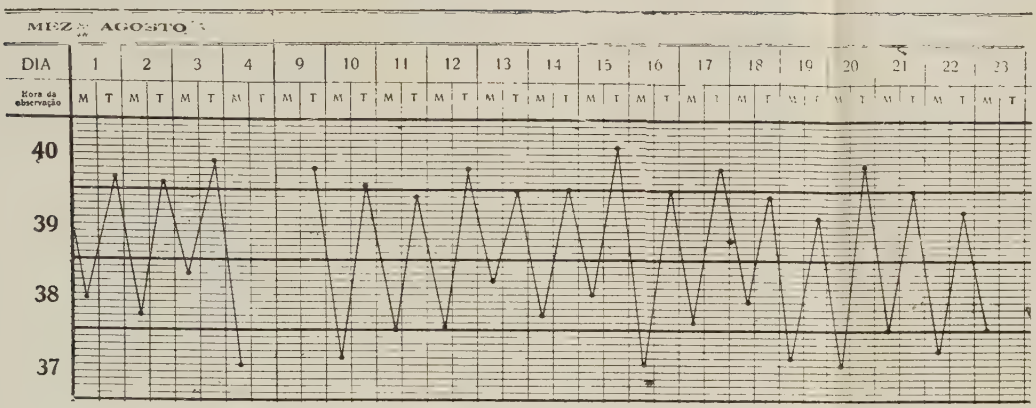
Traçado n. 2 X



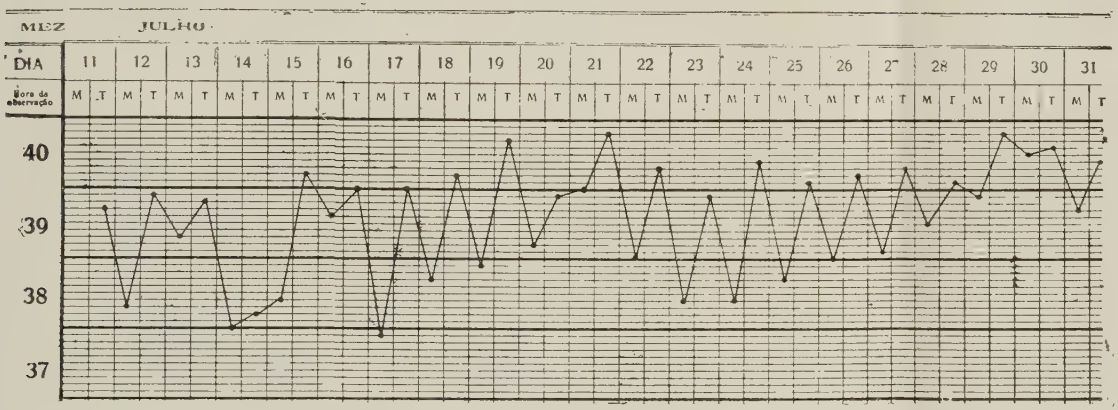
Traçado n 10 A



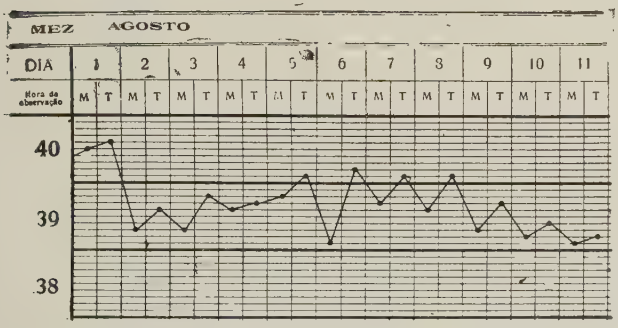
Traçado n. 20



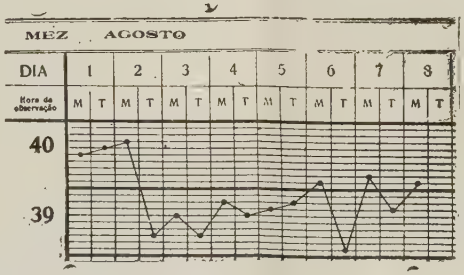
Traçado n D



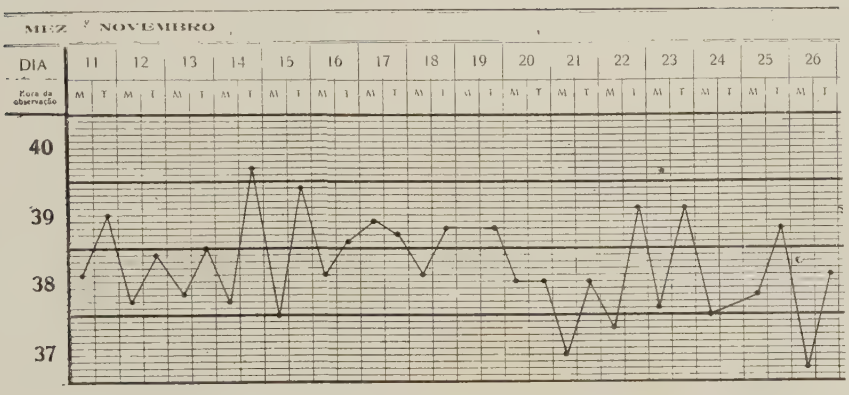
Traçado n. 8



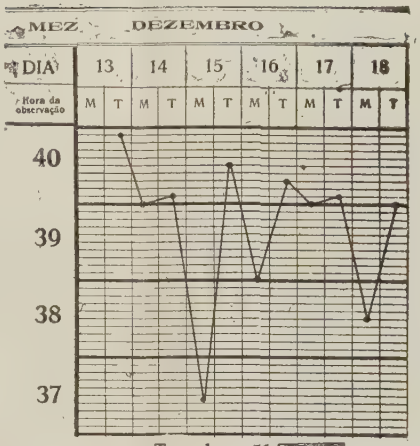
Traçado n. 8



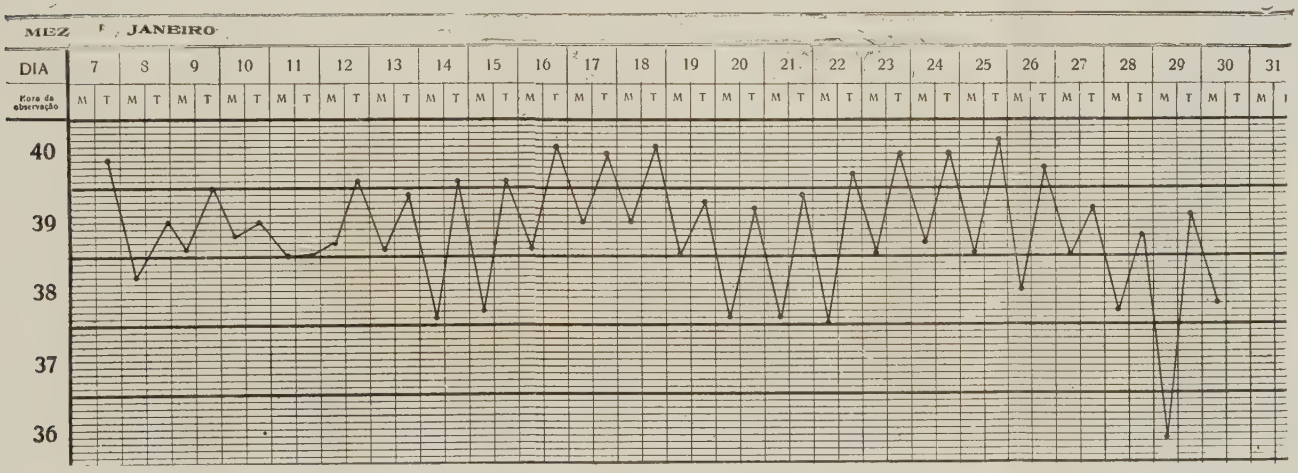
Traçado n. 8



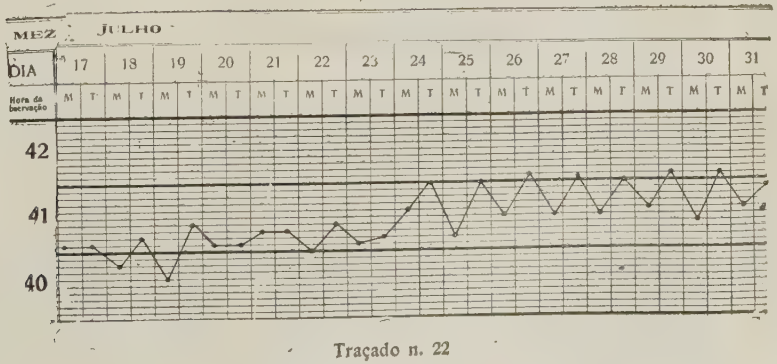
Traçado n. 1 X



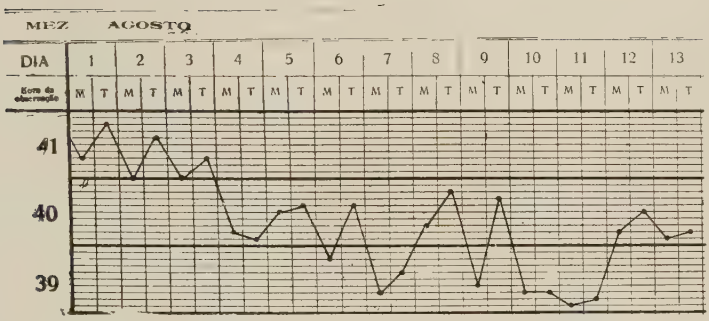
Traçado n. 56



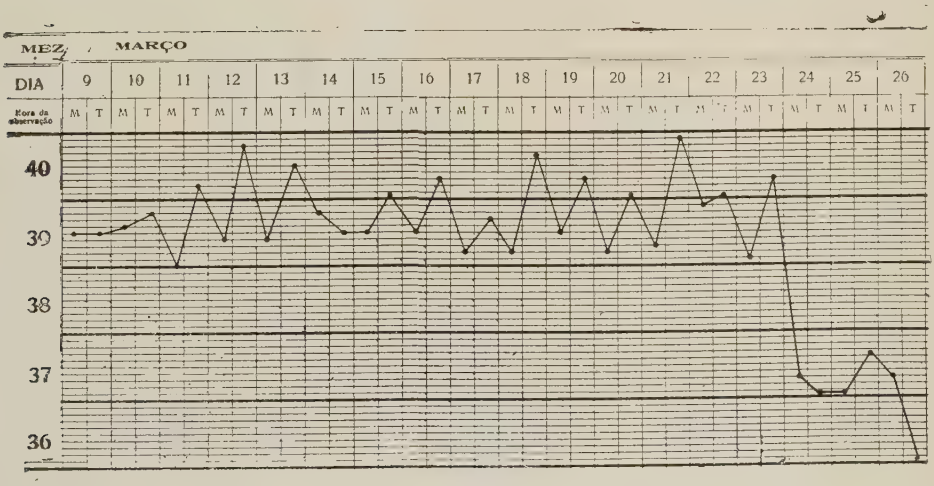
Traçado n. 65



Traçado n. 22



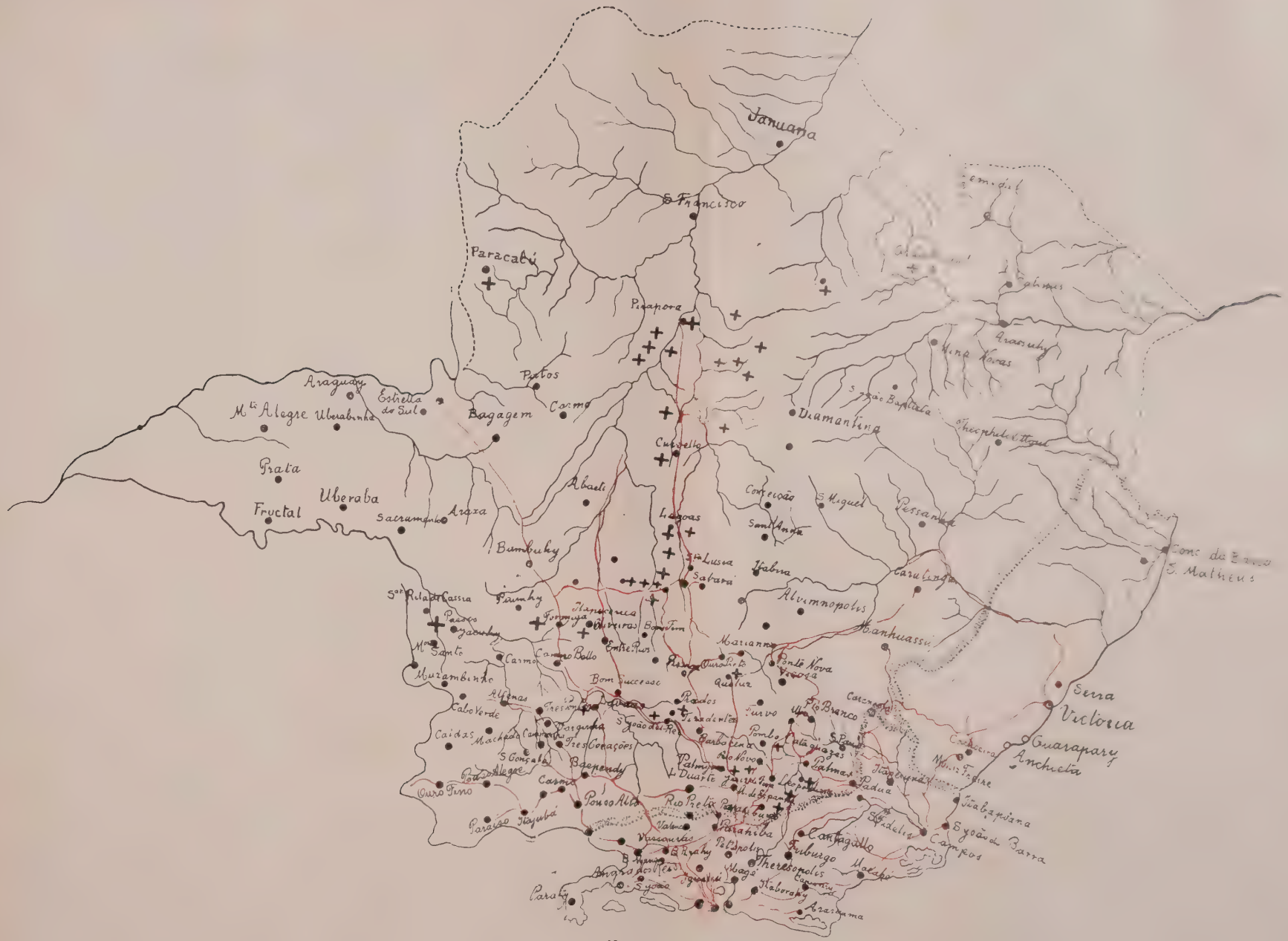
Traçado n. 22



Traçado n. 70

AMAZONAS
Manáos
PARA
Belem
S. LUIZ
Parnahyba
Fortaleza
MARANHÃO
CEARÁ
RIO GRDE DO NORTE
Natal
PARAHYBA
Parahyba
PERNAMBUCO
Recife
ALAGOAS
Maceió
SERGIPE
Aracajú
PIAUHY
BAHIA
S. Salvador
MATTO GROSSO
Cuyabá
GOYAZ
Goyaz
MINAS GERAES
Bello Horizonte
ESPIRITO SANTO
Victoria
RIO DE JANEIRO
Nictheroy
SÃO PAULO
S. Paulo
PARANA
Curytyba
S.ta CATHARINA
Florianopolis
RIO GRANDE DO SUL
Porto Alegre

Mappa n. 1


Januaria
S. Francisco
Paracatú
Pitanpora
Patos
Araguary
Estrella do Sul
Bagagem
Carmo
Prata
Uberaba
Fructal
Sacramento
Araxa
Bumbuhy
Abaeté
Cubello
Lagoas
Conceição
S. Miguel
Pessanha
Diamantina
Araxuhy
Minas Novas
Conc. do Serro
S. Matheus
Alvarenga
Santa Luzia
Sabara
Caruhanga
Alvarenopolis
Santuassu
Serra Victoria
Guarapary
Anchieta
Campos
Campanario
Theresopolis
Petropolis
Parahyba
Valença
Rio Preto
Ponte Nova
Mariana
Ouro Preto
Barbacena
Rio Novo
Palmyra
Padua
Ubá
Leopoldina
Juiz de Fora
Cataguases
Muriahé
Carangola
Manhuassu
Rio Branco
Rio Pardo
Rio Doce
Victoria
Itabapoana
Itapemirim
Cachoeiro
Itapemirim
Espirito Santo
Barra
Macahé
Cabo Frio
Angra dos Reis
Parahy
Ubatuba
Caraguatatuba
Ilha Grande
Ilha Bella
Ilha de S. Sebastião
Ilhabella
Ilha de Santo Amaro
Ilha Santo Amaro
Ilha Grande
Ilha Bella
Ilha de S. Sebastião
Ilhabella
Ilha de Santo Amaro
Ilha Santo Amaro

Mappa n. 2

Phot. n. 1

Phot. n. 2

Phot. n. 3

Phot. n 4

Phot. n. 5

Phot. n. 6

Phot n 7

Phot. n. 8

Phot. n. 9

Phot. n. 10

Phot. n. 11

Phot. n. 12

Phot. n. 13

Phot. n. 14

Phot. n. 15

Phot. n. 16

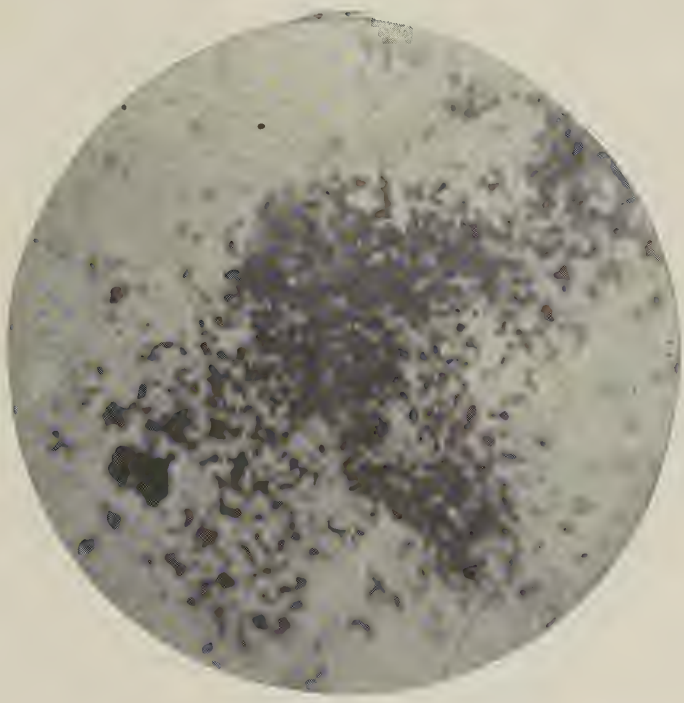
Phot. n. 17

Phot. n. 15

Phot. n. 16

Phot. n 20

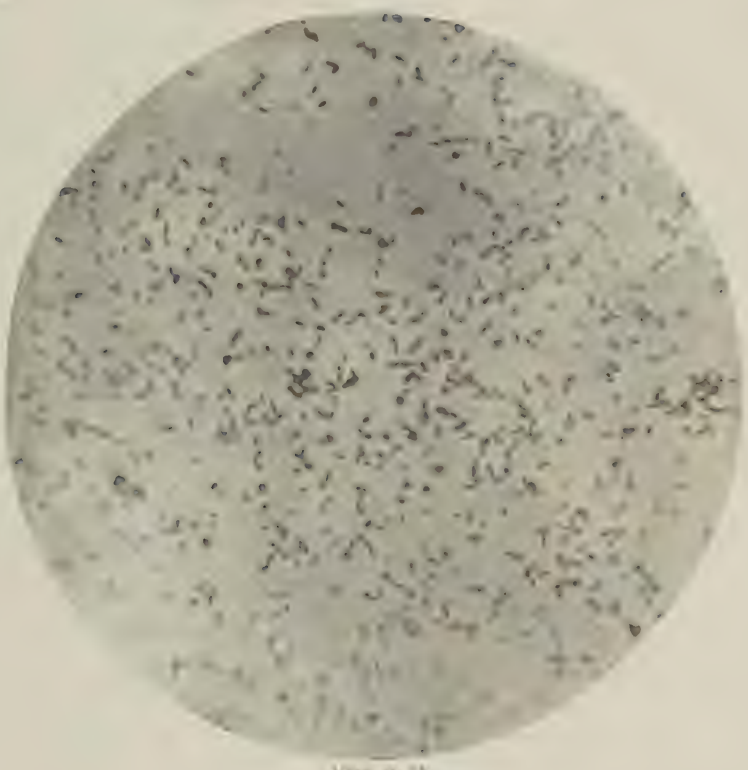
Phot. n. 21



Phot. n. 22

Phot. n. 23

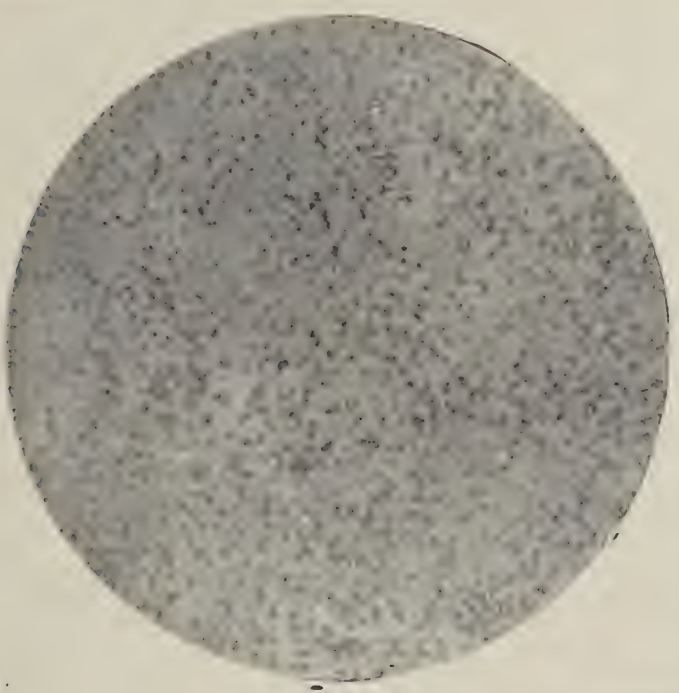
Phot. n. 24



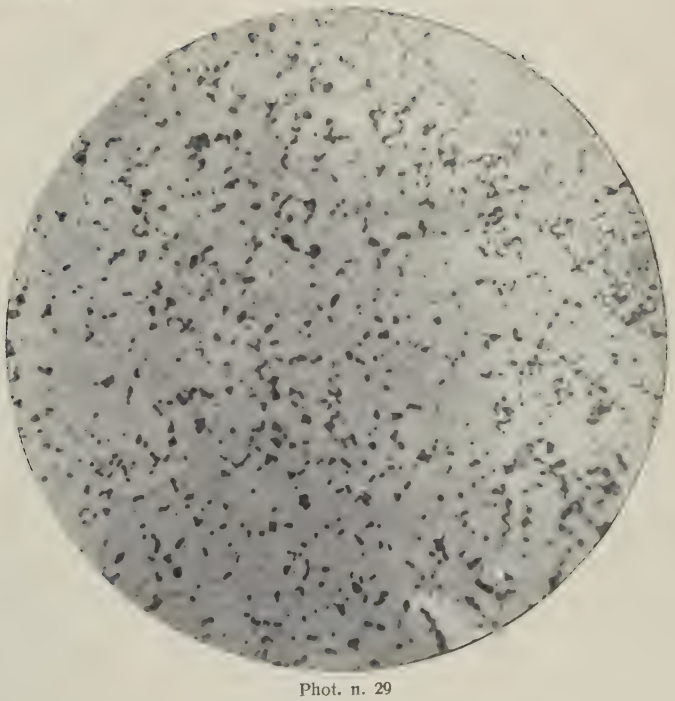
Vinc. n. 23

Vinc. n. 35

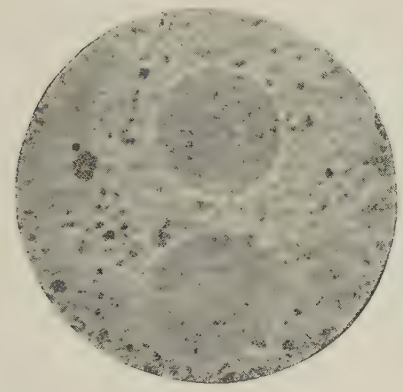
Vinc. n. 37



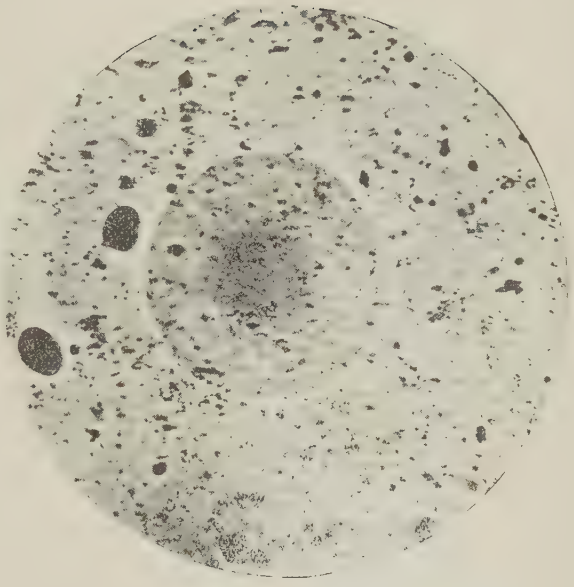
Phot. n. 28



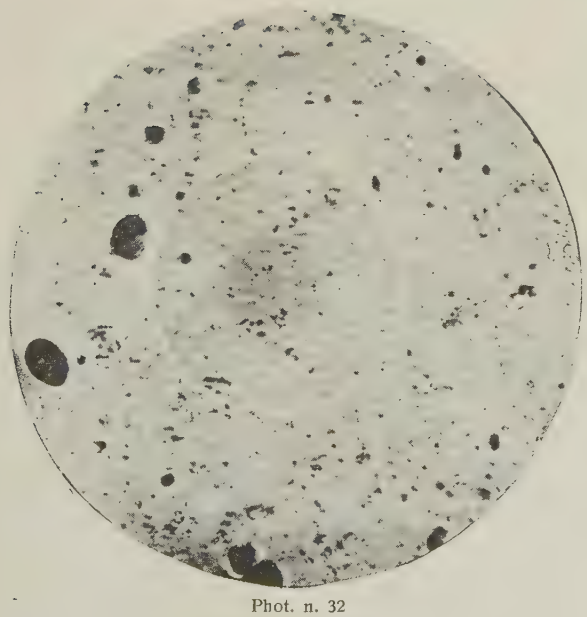
Phot. n. 29



Phot. n. 30



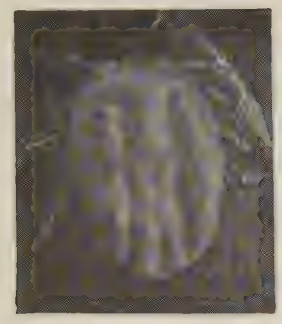
Phot. n. 31



Phot. n. 32

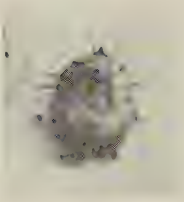
Phot. n. 33

Phot. n. 34



Phot. n. 36

Phot. n. 37



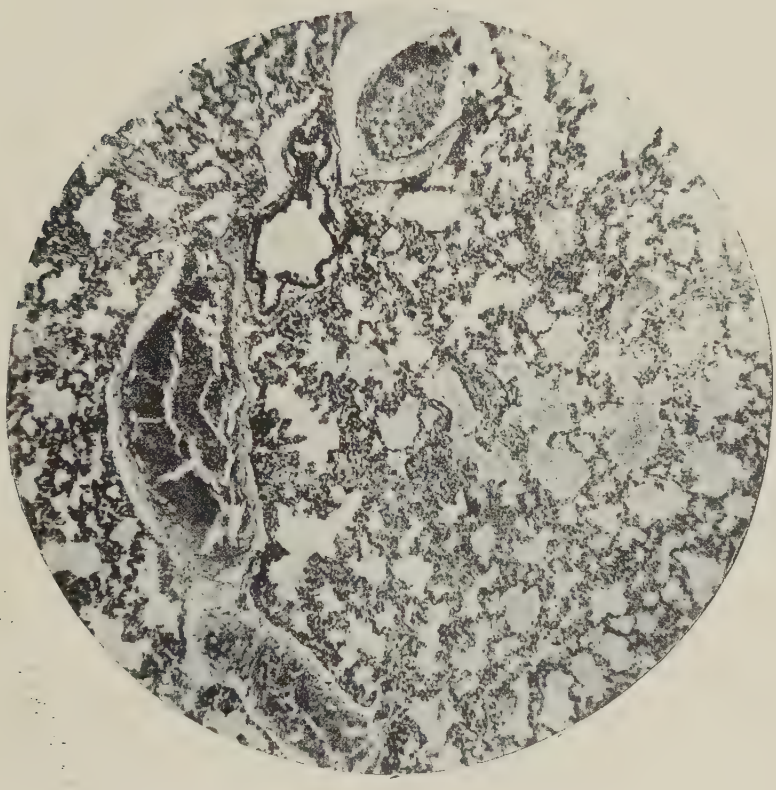
Phot. n. 37 a

Phot. n. 35

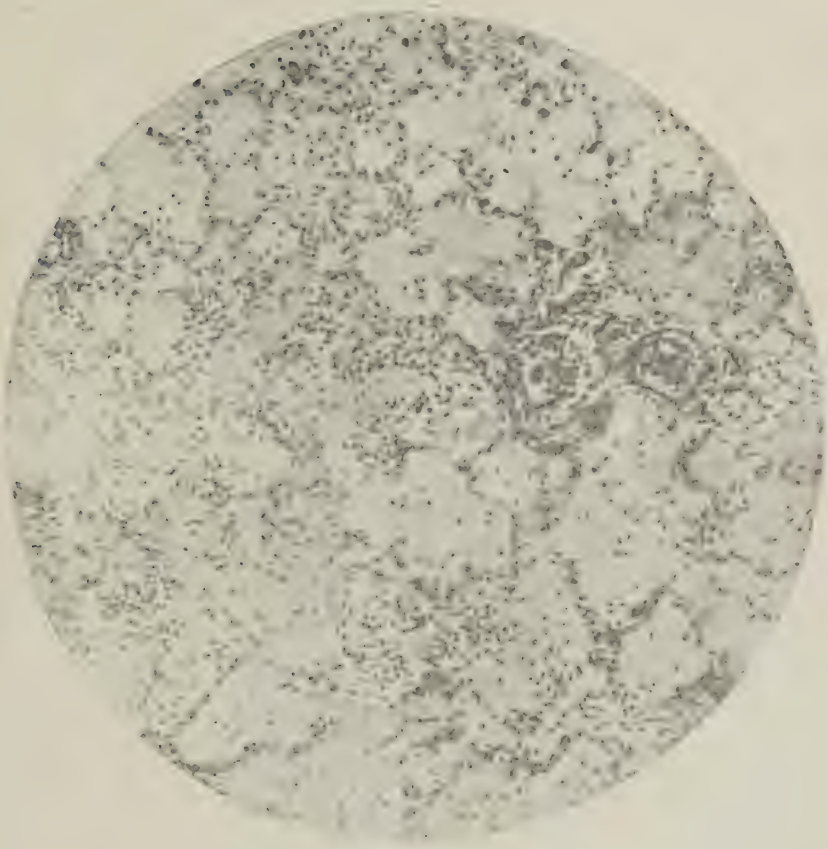
Phot. n. 38

Phot. n. 39

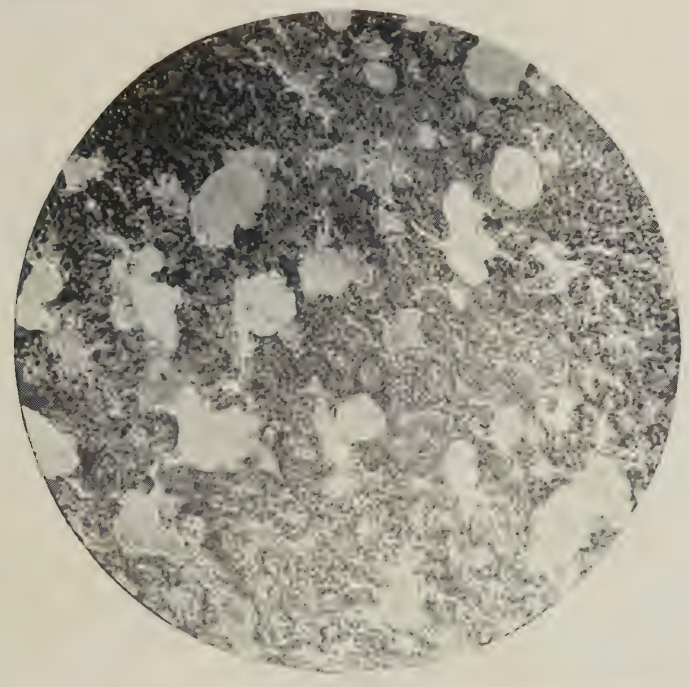
Phot. n. 40



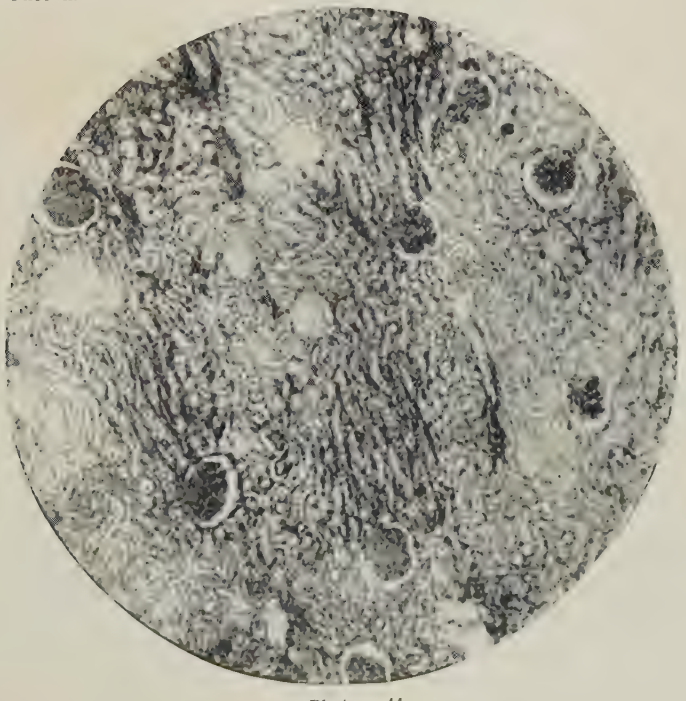
Phot. n. 41



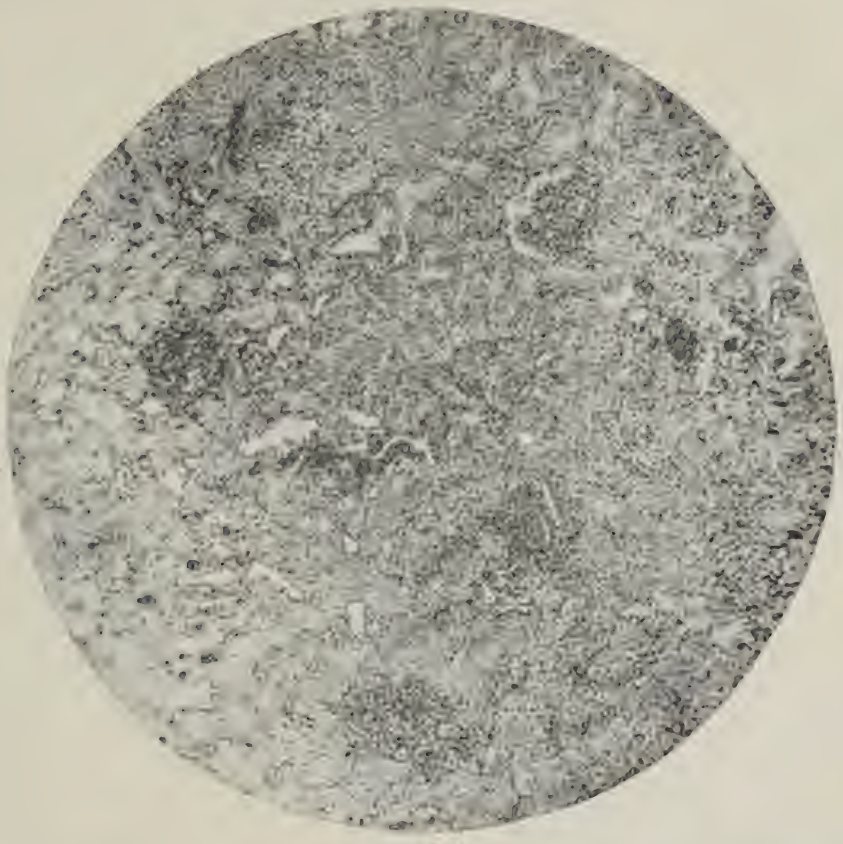
Phot. n.42



Phot. n. 43



Phot. n. 44

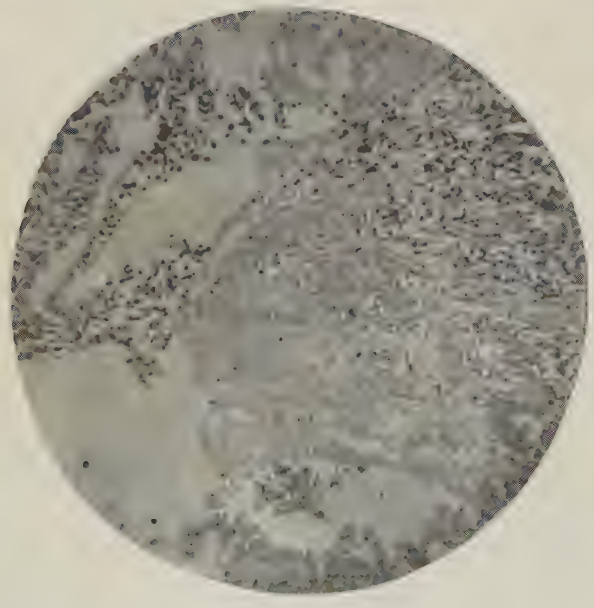


Phot. n. 44

Phot. n. 46

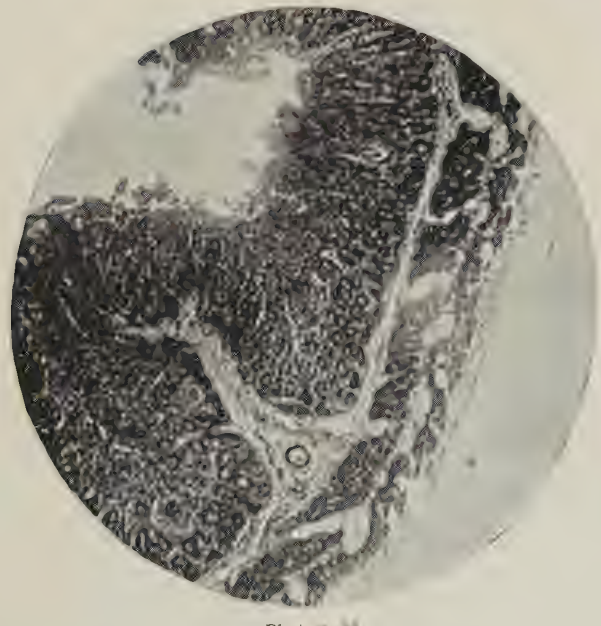
Phot. n. 47

Phot. n. 48



Phot. n. 49

Phot. n. 50



Phot. n. 51

Peste dos Polmões.

SYNONYMS:

"Peste dos polmões"
"VRYBURG's Disease"
"Mal triste"
"Caroços"
"Curso"
"Diarrhœas"
"Peste de Seccar"
"Mal do Tarde"
"Febre dos Pantanos"
"Pneumo-enteritis"
"Multiform Septicæmia"
"Caruára"

by

DR. OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES

This work appears as the result of persevering observation, as a simple statement of what appears to be true regardless of any doctrinary principles or ideas.

It is divided in 12 chapters:

1.) Historic introduction.
2.) Origin.
3.) Microbiology.
4.) Clinical features.
5.) Epizootics and geographical distribution of the disease.
6.) Pathology (macroscopical and microscopical).
7.) Etiology and pathogenicity.
8.) Immunity.
9.) Diagnosis.
10.) Prognosis.
11.) Prophylaxis.
12.) Treatment.

HISTORIC INTRODUCTION.

It is some years ago since I undertook the study of this disease to which I have directed still more attention of late. My aim was not only the obtaining of a means of curing the disease but also the ascertaining of its etiology.

The latter was more particularly important in view of the apparent similarity the disease showed with that described by SORILLON in 1829 and the etiology of which was so brilhantly stu-

died by NOCARD (1) in 1888. The germ described by NOCARD is a fungus belonging to the Streptothrix-group. (2, 3, 4).

At first sight the disease has also a certain resemblance to that described by LIGNIÈRES and SPITZ (5, 6) in the Argentine and has a few points of contact with the disease described by G. BOUFFARD (7) in Man.

BOUFFARD's disease is due to an extremely pus-producing Pasteurella which displays a predilection for skeletal muscle, is GRAM-negative and extremely virulent for rabbits, dogs and monkeys.

There is yet another disease—a pyosepticæmia of colts, caused by a bacillus, the *Bacillus pyosepticus equi,—to* which attention must be directed.

This disease has been recently investigated, especially in the Netherlands, but it has only a far-away resemblance to the one studied here. Recently other correlated affections have appeared in camels and turkeys caused by arrhizophytes. LIENAUX's is due to a pseudo-tuberculous bacillus.

An interesting paper published in Brazil is that of EZEQUIEL DIAS and MARQUES LISBOA (13), in which the writers claim that the bacillus described by VRYBURG in Deli is the same as the one they found in the disease and was its cause. In 1917 G. PALAZZOLO repeated the experiments of those writers and observed the cutaneous disease in younger and older calves.

According to him the disease evolves in from 12 to 50 days. The causation of the disease he attributed to a Pasteurella, with which he reproduced the symptom-complex in a 20 days calf, making use of material taken from the peritoneum of a rabbit killed in less than 24 hours by a pure culture (inoculation of 10 c. c. sub-cutaneously).

The kind of research work undertaken often leads far from the starting point and it is impossible to foretell the course such work will take. Seeking a fungus and perhaps a treatment against it I have been drawn into another territory of microbiology and I have made attempts to isolate, study, and identify numerous bacilli from the lesions as well as to prepare sera and vaccines with these microbes and ascertain their curative or preventive properties. I also undertook the study of the clinical aspects of the spontaneous and experimental infections, an outline of the pathology, of the epizootic occurrence of its transmission. Research-workers in these fields will better be able to judge this work and forgive its deficiencies which are entirely involuntary.

ORIGIN.

The origin of this disease appears to be very obscure.

At first I believed it to be autochtonous on the American Continent and possibly in South America.

The description of VRYBURG at Deli, Sumatra, proves that the disease exists also in the Dutch Indies.

Nothing was found on this subject in the books of the library of the Instituto OSWALDO CRUZ and that of the Veterinary Observation Post and Ward at Bello Horizonte, whilst classic works on veterinary subjects don't even mention the disease.

Might not this disease have been brought in from abroad and adapted to our climate, to our fields and our country. And might not this adaptation have modified the characteristics it displays in other countries?

An old inhabitant of the settling of Queimados (a few kilometres from the station Francisco Sá on the Buenopolis Branch of the Central Railway of Brazil) tells us that he has known the disease for 30 years in the neighbouring fields, where it appeared enzootically and epizootically.

This fact makes us think that it has existed a long time already in our fields more or less confounded with other ailments of cattle.

The term «*peste dos polmões*», is due to the appearance of the animals in one of the forms of the disease. «*Polmões*» derives from the latin «*pulmo*» and means a swelling .

As these swellings become the most striking feature in what I call the cutaneous form of the disease the term became generic for a disease really far more intricate in its symptom-complex. In other parts of the country the swellings have given rise to the term, «*caroço*» (nodule, stone of a fruit); in these places nobody knows anything about «*polmões*», but «*caroço*« everybody known.

In this work I have brought together many forms of the disease only known isolated or else entirely ignored and was able to show, besides, that far from being merely a disease of calves it attacked indifferently cattle of all ages and races. (19).

This is a very important fact to be silenced or misunderstood as happened in the translated transcription of our preliminary note which appeared in the Tropical Veterinary Bulletin, (20). A disease of calves and a disease affecting cattle and goats are two very different things.

By dint of observation and of experimenting I was able to come to the conclusion that at least certain diarrhoeas (chiefly in calves) were manifestations of the same virus that brought about the abscesses *(polmões)* and also that the disease known in some places as «*peste de seccar*» «*mal triste*» is also one of the forms caused by the virus of the abcesses and diarrhoea .

And I went still further; cases of sudden death in an epizooty of peste dos polmões express the acute form which the evolution of the disease may assume in some subjects.

As to the name VRYBURG's disease I bring it forward as a tribute to the writer who apparently first described one of the forms of the disease.

The disease described by VRYBURG in Deli makes itself known by the formation of abcesses in the thickness of the skin, in the superficial vessels and lymphatic glands and sometimes in the lungs. The disease is chronic, very rarely accompanied by fever and the diseased animals usually end by recovering. The pus from the abcesses is thick, creamy, pale yellow and devoid of odour or in rare instances accompained by a nauseating smell. It is not homogeneous but granulous although it contains no granules like those of actinomycosis. The disease lasts from one month to one year.

One complication is indicated—i. e. an inflammation of the horn-forming tissues so that the animals connot walk.

The germ incriminated by VRYBURG as the causer of the disease seems to be very similar to the one I have often isolated from the cutaneous form seen in this country.

Recently (21) SIVOSI and MARCHISOTTI described a new disease of pigs (Pyohaemia by the BRIDE'-SIVOSI bacillus) resembling slightly the peste dos polmões. Nervous lesions are common in this disease. Guinea-pigs are extremely susceptible to the GRAM-negative bacillus isolated. The writers believe that the germ causing the disease is the same BRIDE'-SIVOSI bacillus found by COSTELEZZI and POXELLA in the caseous abcesses of cattle and the caseous pseudo-tuberculosis of sheep. They believe it to be related in some way with the bacillus CARRE' described in Lure's disease

As can be seen from the fore-going descriptions the disease studied here has

more points of contact with the one occurring in Deli.

The disease, if brought in to this country from abroad, must have come from Asia. VRYBURG in his paper mentions Zebu cattle. Might not the disease have been taken to Deli by cattle imported from India. However it has to be admitted that in British periodicals I was unable to find a reference to any such disease of animals in India.

Deli, as is well known lies in the north of Sumatra at the edge of the malay Straits almost at the mouth of the Indian Ocean. The trade of cattle with India ought to be very extensive. The subject will have to be gone into carefully, however.

The name «*mal do tarde*» is peculiar to Rio Grande do Sul. The influence of living on the border-line with spanish-speaking nations here makes itself felt. Tarde is the word the «estancieiro» or rancher applies to the season corresponding to the end of summer and the autumn. The calves born at this time of the year are animals of the «*tarde*», a bad season, so they say, for the breeding of cattle. Whence the frequent sickening from different diseases of these less resistant animals. Just at this season VRYBURG's disease is known to appear. The unknown disease of unknown cause receives the name of the séason in which it makes its appearance—*mal do tarde*.

And yet the disease is neither the apanage of new-born calves nor yet of one of the year's seasons.

MICROBIOLOGY.

Among the germs I isolated from animals with the disease the bacilli of the type described by VRYBURG at Deli and found in this country by E. DIAS and M. LISBOA, should be mentioned in the first place.

Of course my first aim was to find out where the germ that caused the disease might be found constantly. The abcesses should certainly contain the etiologic agent of the disease at any time and to these I turned my attention the more so as at first I took this to be the sole lesion of the disease,

Examination of the pus obtained from the abcesses soon proved it to be very septic at any stage of the disease. I believe it must be so from the onset of the lesion. I have examined closed abcesses smaller than a nut and others larger than a shaddock. In an ox from a farm belonging to Captain Divino near Lassance (Central Railway of Brazil), 50 leagues from Bello Horizonte, I saw, side by side with other smaller lesions, an abcess in the neck voiding about 3 litres of pus (Phot. 10).

Differences in quantity and quality of the germs found were not noticed.

Not once in the course of about two hundred examinations did I find an aseptic pus.

The GRAM process disclosed in turn GRAM-positive and GRAM-negative bacilli. We see bacilli of VRYBURG's type. At times, but rarely, streptothrix types. No acid-fast bacilli are to be found, nor are spirilla, treponemes or any other protozoa.

TRIBONDEAU-FONTANA and GIEMSA preparations revealed no other organisms besides the ones mentioned.

GRAM-positive bacilli are of different sizes, of the diphtheroid type to which we will return anon.

Careful study of thin layers well fixed by alcohol 40°. enabled me to see among the microbes minute GRAM-negative diplococci, which were very frequent.

In all cases except where it is otherwise stated, closed abcesses alone were made use of .

At first all efforts were directed to the finding of bacilli of the VRYBURG type, but to my surprise I found that

in many cases, in a great number of attempts, the culture-media inoculated (60 tubes, sometimes, with different media) remained sterile.

Smear preparations however never failed to show various germs, direct examination never indicating a pus to be sterille.

Several hypotheses now thrust themselves on our consideration to explain the apparent contradiction between direct examination and inoculation in culture media. Might the germs in the pus be dead? Might no bacilli of VRYBURG's type be among them? Or were the culture media employed insufficient? Or were the germs found in the *polmões* anaerobic and consequently unfit for growth on the media under the circumstances?

The technic applied was the following: the skin of the animal was shaved and washed with a slightly antiseptic solution (creolin, lysol etc.), and then tincture of iodine was applied to it (5 mins.). The site was then cauterised with a heated iron and next it was punctured with a pipette drawn out in a blow-pipe or with a syringe to which was adapted a thick needle. As a rule the pus spurted into the pipette which only needed to be mooved about occasionally so that the point should not get clogged.

Inoculation of culture media was carried out according to the usual rules, closed abcesses of all sites being selected. At the same time smear-preparations were made on fresh slides previously heated in the flame of a spirit lamp. The pus was diluted in saline for inoculation purposes.

With regard to the first of our questions the answer is affirmative: the bacilli were alive. The proof will be found further on.

As to the second: there were no bacilli of VRYBURG, because these bacilli grow abundantly and rapidly on the usual culture-media, (agar with glycerin, beef broth etc.).

In other media for aerobic germs, such as agar with or without glycerin, SABOURAUD's medium with maltose, the same with skin, LOEFFLER's coagulated serum, NOGUCHI's medium (serum and broth without glycerin and without kidney), glycerin-agar with pus etc., results are no better in such cases. But broth with or without glycerin and NOGUCHI's media (without organs) sometimes give cultures although all others remain sterile. This fact finds its explanation in the fact that often anaerobic germs being found in the abcesses and of their only being able to grow on appropriate media: ordinary broth is good in its lower layers, NOGUCHI's medium is excellent.

In accordance with recent theories on the subject of vitamins and with what has been done in epizootic lymphangitis (23) I prepared a medium with pus (glycerin-agar-pus). Notwither standing this no growth of bacilli was obtained under conditions suited to aerobes.

In cultures with pus the development of the bacilli of VRYBURG's type was neither more rapid nor more plentiful: The tubes were prepared by adding to each tube of glycerin-agar 10 to 15 drops of a 5 % solution of pus, previously sterilised.

In the cases of pus containing no aerobic bacilli, the anaerobes I isolated were GRAM-negative and-positive: they were, besides, smaller, although different, to VRYBURG's bacillus, which may also live as an anaerobic (facultative anaerobe.).

But in those cases in which there are only anaerobes in the pus, any inoculation however, considerable, remains sterile if oxygen is present, whereas, inoculated in a LIBORIUS tube there grow immediately a great many colonies. Each one of these germs will be referred to further on.

Bacilli of VRYBURG's type are small polymorphic GRAM-negative about 0,5 μ length, with marked Brownian movment and, perhaps slight lateral movements. These are so evident that at first I took them all to be motile.

I studied 8 strains of these bacilli: it would not be a mistake to assert that there are motile races. In a table will be found indicated the systematic study I carried out during a long time on these 8 strains.

In the begining of this work I mentioned that at first I made attempts at finding fungus and therapeutics against it.

Given the polymorphism of VRYBURG's bacillus and some of its requirements I decided to inoculate it on culture media devised for fungi and to watch the results. Inoculations on SABOURAUD with maltose, glycerin or *rapadura* (brown, unrefined sugar, «cassonade»), during a long time, brought about no changes in the shape of this bacillus.

The colonies grow slowly at laboratory temperature and this culture-medium is not good for the preservation of the bacilli. On ordinary laboratory media, inoculation of virulent material produces an abundant growth of VRYBURG's bacilli when these are present. It is interesting to observe that with reinoculation the bacilli increase in volume, becoming longer and thicker. This is marked on potatoes and milk.

They may assume the form of strepto-bacilli with chains of four to six elements. In old cultures these have not infrequently 50 to 60 elements. Superficial and deep colonies are worth studying. Superficial colonies were studied on those obtained on agar in a PETRI box. The internal pattern, under high magnification appears as a fine and equally distributed reticulum. The colonies are rounded with distinct outlines, transparent or slightly dull, viscous, with two quite distinct zones on the internal aspect: a dark, central and a light peripheric one. (Oc. 4 or 5; Obj. AA. ZEISS; Daylight).

When inoculation has been done with care the colonies are not confluent. They remind one, on the whole, of the chickenpest bacillus sown on the same medium. In some cases in the next 16 or 20 hours they might be reminiscent of the colonies of the *Staphylococcus pyogenes albus*. When inoculation has been abundant they form one continous layer on the surface of the culture-medium. In 24 hours at 37°C. enough material can be obtained for agglutination purposes. Already VRYBURG had asserted that the bacillus was a facultative anaerobe. In this paper I give a photograph of a culture in a LIBORIUS tube. The colonies grow slowly and form so many dots throughout the thickness of the agar, which besides being placed in a high column, was covered with a certain amount of liquid vaselin, previously sterilised.

These tubes were taken into a glass bell in which was first created a vacuum and which was then submitted to a current of pure hydrogen. They were then tightly stoppered and placed in the incubator at 37°C. To re-inoculate the bacilli, the agar was heated until it liquefied and then cooled rapidly to about 50°C. when a suspension of the bacilli could be used for passing into other tubes. Anaerobic colonies are irregular, darker in the centre, but without a fringe. Anaerobic as well as aerobic colonies of VRYBURG's bacillus have no characteristic smell.

Anaerobic colonies were also obtained by the combined process, making use of potassium pyrogallate, vaccum and a current of hydrogen (broth and agar media.). The tubes for cultivation were placed inside other wider tubes, of the kind used for potatoes (with a constriction below) and at the

bottom of which was placed potassium pyrogallate. The bigger tubes, stoppered with cotton wool, cork and paraffin, where put under a glass-bell in which was made a vacum and which was submitted to a current of pure hydrogen. The glass-bell was raised to a temperature of 37°.C.

The bacilli in emulsion in saline solution do not pass through the BERKEFELD filters. This had already been observed by EZEQUIEL DIAS and MARQUES LISBOA in the paper I have quoted. This is of decisive importance for the work as it stood. But on the other hand, even if the bacilli did pass this would not annul the value of our expements since the bacilli might be able to go through when suspended in saline solution and be unable to do so when in blood or pus owing to the different physical conditions.

I haste to make mention that the unpleasant smell of the pus of the abscesses is caused by the anaerobes it contains, and chiefly the *Diplococcus polmonis*.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	U. Bacillus
Blood-agar (slanting)	Colonies as in M. Edges sharp.	24 hours Abundant cultures as in P.	24 hours. Cultures very abundant, small, transparent but confluent, regularly rounded.	24 hours. Abundant cultures. Colonies dull white, thick, rounded with a prominent centre. Internal design reticulated. Borders regular, made up of dots.
Gelatin (stab)	Dissolved in 3 days, tube-shape, in 8 days there was increase.	Like Patrocinio.	Dtto.	Dissolves in 8 days. After 6 days the stab had the appearance of a root with rootlets.
LOEFFLER serum (slanting)	Culture less plentiful than on serum agar. Weak development. A yellowish streak along the path of inoculation.	Like Patrocinio.	Dtto., dtto.	Dtto., dtto.
Serum agar.	Like G. Bacillus	Like G. Bacillus	Like G. Bacillus	Dtto., dtto.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	U. Bacillus
Glycerin broth	Uniform clouding. Very fine sediment after a time.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.
Potato	48 hours. Glistening culture hardly visible.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.

	G. Bacillus	Patrocinio Bacillus 66	Bacillus p. D.	Bacillus s. D.
Potato	Like Patrocinio Bacillus	Like Patrocinio Bacillus.	Fair development. In 48 hours, surface is covered with small, moist white colonies. Water cloudy with pellicle and sediment.	Like Bacillus p. D.
Blood-agar	Very abundant culture in 24 hours. Similar to P.			Culture similar to Bacillus P.
Gelatin	Liquefaction in 8 days. In 6 days as in M. Bacillus.	No liquefaction	Liquefaction in 24 hours. A small drop of liquefaction is to be observed. In 72 hours mixed liquefaction in tube and sack-form.	Like Bacillus p. D.
LOEFFLER serum (slanting)	Like Patrocinio Bacillus, except for growth, which is less considerable.	Growth abundant. Appearance as in ordinary agar.	Growth is intense. In 24 hours a yellow streak making a groove in the medium. In 48 hours liquefaction of medium.	Like Bacillus p. D.

	G. Bacillus	Patrocinio Bacillus 66	Bacillus p. D.	Bacillus s. D.
Serum-agar	Abundant colonies. Bigger than in any other medium in the same space of time (22 hours). Differences as compared with LOEFFLER's medium are marked. Colonies translucent, rounded. Darker zone in the middle. Colonies of 22 hours with 5 millimetres.	—	—	—
Glycerin-broth	Like Patrocinio Bacillus.	—	Homogeneous clouding in 24 hours. Fine pellicle. Flocculent sediment. These characters increase on following days.	Like Bacillus p. D.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	M. Bacillus
Glycerin-agar	Small, translucent rounded colonies. Internal design uniform (48 hours). There is confluence. Colonies delicate like dysentery bacillus colonies.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.	As in Patrocinio Bacillus, except in colour, which is hazy and consequently less transparent.
Milk	Coagulation in 48 hours. Colour unchanged 10 days later.	Like P. Bacillus	No coagulation in 48 hours or after.	Like Patrocinio Bacillus.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	M. Bacillus
Beef broth	Equal clouding in 24 hours without pellicle. 41 days later wrinkled white pellicle on surface.	Like P. Bacillus	Uniform clouding without pellicle on surface.	Uniform clouding. 48 hours later pellicle formation.
SABOURAUD with malt-sugar and with rapadura. (Brown unrefined sugar).	—	Like P. Bacillus	Not appropriate for growth of bacilli. Colonies are delicate.	
DRIGALSKY-CONRADI.	Like M. Bacillus	Germinates well. Colonies small, rounded, translucent of a blue tone. Culture medium unaltered.	Like X. Bacillus	24 hours' colonies small and rounded. Culture-medium unaltered. Abundant growth. Culture-medium turns red in mass after 48 hours.
	G. Bacillus	66. Bacillus	p. D. Bacillus	D. s. Bacillus
Glycerin-agar	Like Patrocinio Bacillus.	—	Like ordinary agar.	Like ordinary agar
Milk	Like P. Bacillus	48 hours unaltered.	Coagulated in 24 hours.	Coagulated in 24 hours.
Beef broth	Like P. Bacillus	In 24 hours uniform clouding. In 48 hours a fine pellicle has formed on the surface.	Like glycerin-broth.	Like glycerin-broth.
SABOURAUD with maltose and S. w. rapadura.	Like P. Bacillus	No appreciable development.	Scanty growth. A narrow white streak with regular margins. In time and with the aid of a magnifying-glass of 6 diameters individual colonies could be made out.	Like Bacillus S. D.

	G. Bacillus	66. Bacillus	p. D. Bacillus	s. D. Bacillus
DRIGALSKY-CONRADY	Like P. Bacillus.	—	Does not alter the culture medium. When growing in surface, it forms a thin pale-blue layer. In time isolated colonies are bluish circular, smooth and of different sizes.	Like S. D. Bacillus.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	M. Bacillus
Heating at 50° C. during 30 minutes.	Is not killed.	Is not killed.	Is not killed.	Is not killed.
Heating at 60°C during 5 minutes.	Killed.	Killed.	Killed.	Killed.
Determination of Indol (Fleig's furfurol process).	30 days' broth culture: traces of indol.	None produced.	None produced.	None produced in a short time. After many days there are traces of indol.
Capsule	None.	None.	None.	None.
Cilia (VAN ERMEGHEM and TRIBONDEAU-FONTANA processes).	None. Bacilli with a darker central part and a lighter and wider peripheric part.	None. Like Patrocinio Bacillus.	None. Like Patrocinio Bacillus.	None. Like Patrocinio Bacillus.

	66. Bacillus	p. D. Bacillus	s. D. Bacillus	G. Bacillus
Heating at 50°C. during 30 minutes.	Killed.	Killed.	Killed.	Is not killed.
Heating at 60°C. during 5 minutes.	Killed.	Killed.	Killed.	Killed.

	66. Bacillus	p. D. Bacillus	s. D. Bacillus	G. Bacillus
Determination of indol (Fleig's furfurol test).	None.	None.	None.	None.
Capsule	None.	None.	None.	None.
Cilia (VAN ERMEGHEN and TRIBONDEAU-FONTANA).	None.	None.	None.	None.
ENDO culture-medium.	Like M. Bacillus.	In 24 hours high, red, circular colonies of 0,5 to 1 millimetre diameter.	Like Bacillus p. D.	Like M. Bacillus.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	M. Bacillus
ENDO culture-medium.	Colonies as in M. Bacillus. Slight pink hue in culture-medium.	Like M. Bacillus.	Like M. Bacillus.	Small, transparent colonies. Abundant growth. Medium unchanged.
GRAM stain	Negative.	Negative.	Negative.	Negative.

	G. Bacillus	66. Bacillus	p. D. Bacillus	s. D. Bacillus
GRAM stain	Negative.	Negative.	Negative.	Negative.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	M. Bacillus
Resistance in cultures with-in laboratory.	Died in 3 months and 7 days.	Died in 64 days.	Died in 3 months and 7 days.	Like P. bacillus.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	M. Bacillus
Resistance to cold (MORGENROTH's Frigo).	Resists during 48 hours at 3°C. above freezing-point.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.
Movements	Very marked Brownian motion.	Like Patrocinio Bacillus	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.
Pathogenicity Rabbit *Oryctolagus cuniculus* (L. 1766).	High. Kills in from 4 to 6 days.	Kills in 4 to 6 days.	High (there is always local œdema). Kills in 4 to 6 days.	Kills in 4 to 6 days.
Spores	No production.	No production.	No production.	No production.
Agar	Like Bacillus 66.	Like Bacillus 66.	Like Bacillus 66.	Like Bacillus 66.
ZIEHL-NEELSEN or FONTES stain.	Negative.	Negative.	Negative.	Negative.

	G. Bacillus	66. Bacillus	p. S. Bacillus	s. S. Bacillus
Resistance in cultures in laboratory.	Like P. Bacillus.	Died in 30 days.	Still alive after 4 months in laboratory.	Still alive after 4 months in laboratory.
Resistance to cold (MORGENROTH Frigo).	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.	Did not grow at 4°C. in Frigo. Grew scantily at slightly higher temperatures. Four days at 4°C. did not kill it.	Like Bacillus p. S.
Movements	Like Patrocinio Bacillus.	Lateral movements.	None.	None.

	G. Bacillus	66. Bacillus	p. S. Bacillus	s. S. Bacillus
Pathogenicity for rabbits *Oryctolagus cuniculus* (L).	Like P. Bacillus.	Highly pathogenic. 1 loopful of a 24 hours' culture kills a rabbit of 500 to 800 grms. weight in 45 hours.	Very virulent. Death in less than 24 hours.	Very little virulent. Rabbit resists big doses.
Spores	No production.	No production.	No production.	No production.
Agar	Like Bacillus 66.	Colonies small, rounded translucent, not confluent (48 hours at 37°C.). No odour. After an equal period of development they resemble chicken cholera colonies.	Surface growth: white layer, thin and homogeneous (24 hours), easily carried off by condensation water. A well constituted streak (slanting agar) 30 to 50 millimetres wide, white and with slightly undulate almost regular edges. Isolated colonies circular, with a dlameter of 0.25 to 0.50 centimetre semi-opaque, whitish. Condensation water cloudy. Pellicle and flocculent sediment.	Like Bacillus p. S.
ZIEHL-NEELSEN or FONTES.	Negative.	Negative.	Negative.	Negative.
CLAUDIUS process.	—	—	Negative.	Negative.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	M. Bacillus
Pathogenicity for calves (*).	Practically none. Great doses and insignificant reactions.	Virulence slight. 1 c.c. of a thick emulsion may provoke small cutaneous abcesses.	Like X. Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.

(*) The calves were brought to the laboratory still quite young and were kept a long time under observation, both as regards temperature and general state of health.

	Patrocinio Bacillus	X. Bacillus	P. Bacillus	M. Bacillus
Pathogenicity for white rats.	Not pathogenic.	Not pathogenic.	Not pathogenic.	Not pathogenic.
Anaerobic growth	Good.	Good.	Good.	Good.
Size	0,5 micromill. (average).	0,5 micromill. (average).	0,5 micromill. (average).	0,5 micromill. (average).
Shape	Small cocco-bacillus with rounded ends.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.
BERKEFELD and CHAMBERLAND filters.	Does not go through.	Does not go through.	Does not go through.	Does not go through.
Peptone-water	Homogeneous clouding, no sediment.	Homogeneous clouding, no sediment.	Homogeneous clouding, no sediment.	Homogeneous clouding, no sediment.
BARSIEKOW I	No fermentation.	No fermentation.	No fermentation.	No fermentation.
BARSIEKOW II	No fermentation.	No fermentation.	No fermentation.	No fermentation.

	C. Bacillus	66. Bacillus	p. S. Bacillus	s. S. Bacillus
Pathogenicity for calves.	Like X. Bacillus.	None. A massive dose produces no reaction even locally.	None.	None.
Pathogenicity for white rats.	None.	—	Very pathogenic; the germs can be isolated from all the organs.	Like Bacillus p. S.
Anaerobic growth	Good.	Good.	Good.	Good.
Size	0,5 micromill. (average).	0,5 micromill. (average).	0,4 micromill. (min.) 0,97 micromill. (ave.) 1,6 micromill. (max.)	Ave.—0,97 de Mic. Min.—0,3 de Mic. Max. (broth) 1.7 micromill.

	G. Bacillus	66. Bacillus	p. S. Bacillus	s. S. Bacillus
Shape	Like Patrocinio Bacillus.	Like Patrocinio Bacillus.	Very small bacillus with rounded ends. Sometimes resembles a coccus. Often in 24 hours forms strepto-bacilli (3 to 4 elements). In old cultures strepto-bacilli with 40 to 50 elements.	Like Bacillus p. S.
LIGNIÈRES agar	—	—	In 24 hours, scanty growth. Less than on ordinary agar.	Like Bacillus p. S.
BERKEFELD and CHAMBERLAND filters.	Does not go through.	Does not go through.	Does not go through.	Does not go through.
Peptone water	Uniform clouding, without sediment (in 24 hours) nor pellicle-formation.	Like G. Bacillus.	Like G. Bacillus.	Like G. Bacillus.
BARSIEKOW I	Does not ferment.	Does not ferment.	Does not alter the medium. Clouding and pellicle-formation.	Like Bacillus p. S.
BARSIEKOW II	Does not ferment.	Does not ferment.	Like BARSIEKOW I	Like BARSIEKOW I

The bacilli worked with have the following origin:

Patrocinio (bacillus): strain obtained form the city of Patrocinio, State of Minas Geraes.

X. (bacillus): strain obtained by passage of *Primitivo* bacillus through rabbits.

P. (Primitivo Bacillus): strain obtained form a calf with open *polmões* (suppuration) in the suburbs of Bello Horizonte.

M. (bacillus): strain obtained from another calf.

G. (bacillus): strain obtained by rabbit passage of X bacillus (2nd *passage*).

66. (bacillus): strain obtained from the *polmões* of calf nº. 66.

p. D. (bacillus): strain obtained from pus of ox D.

s. D. (bacillus): strain obtained from blood of ox D.

Therefore the number of strains worked with was eight and I may now

assert that the bacillus of VRYBURG's not limited to one fixed race as I at first supposed. Rabbit passage, for instances brings about certain changes.

As can be seen above, the bacilli were isolated from the closed or open lesions of calves and sometimes of rabbits. It must be pointed out that bacilli of VRYBURG's type could only be obtained in a very limited number of cases. I was not able to isolate it from the viscera of animals killed by the natural or experimental infection (calves). From the viscera of laboratory animals they can be obtained with relative ease. Only once were able to isolate the bacillus from the blood of an ox (with the spontaneous infection).

In the following table will be found inoculations of blood and organs into culture media with the object of finding VRYBURG's bacillus. At first only media for aerobes were used but lately I made use of media for aerobes and of media for anaerobes at the same time. The following media were used: beef broth, agar, glycerin-agar, LOEFFLER serum, SABOURAUD with maltose, SABOURAUD with rapadura, NOGUCHI, glucose broth, LIGNIERE's agar, serum agar, blood broth, etc.

The technic employed in obtaining and inoculating the blood was the following:

The animal was brought to a sheltered place, if possible next door to the laboratory (operating room). It was held in an appatus for immobilising it and the neck was shaved in the region of the external jugular vein. If very much fur had been spread over the body during the shaving, the animal was given a bath.

Tincture of iodine (1/12) was applied and the spot about to be pricked by the syringe was branded with a hot iron. Blood was drawn with a syringe previously heated at 120°C. during 20 minutes in an autoclave after the base of the neck had been compressed so as to ensure the turgescence of the vein. The culture media already mentioned were inoculated as were also some flasks containing 50 c. c. of beef broth.

The inoculated media were placed in an incubator at 37°C. and their sterility was verified daily, when necessary even microscopically.

It is interesting to note that in 21 out of 24 cases there was no growth of micro-organisms. In one case there was contamination by a common germ, the *Bacillus subtilis*, while from the same case and at the same time was isolated a bacillus bigger than VRYBURG's with the typical appearance of the pasteurellas. At another time I obtained a very motile, GRAM-positive, bacillus, which had probably come from the intestine. At another attempt, I isolated from the blood of an ox with the chronic form and the skin localisation, the *Staphylococcus pyogenes albus* and a bacillus provenly of VRYBURG's type.

The animals were submitted to these experiments at different stages of the disease. The acute febrile period was preferred, both in the natural and the experimental disease. Material was taken more than once from the same animal at different times and at different hours of the day.

According to a rule well-known to workers in serum therapeutics the periods of digestion were avoided on account of the germs that might be in the circulation. Besides this animals in cachexia or agony were systematically put aside; as a consequence results otained if not plentiful are at any rate dependable. Inoculation in rabbits of blood taken from sick cattle also goes to prove that the bacilli of VRYBURG's type or of any other germ that might be incriminated are absent from the circulation, in spite of the many big foci

of purulence. This interesting fact might perhaps find its explanation in the strong fibrous sheaths which surround the abscesses right from the first.

Cultures from Blood.

Number acc. to Order	Number of Animal	Form of disease	Results
No. 1	No. 1	Acute experimental. Death in 48 hours.	Negative (sterile)
No. 2	No. 2	Chronic, natural.	Negative (sterile)
No. 3	No. 23	Chronic form.	Positive. Long, GRAM positive bacillus with clear-cut extremities; colonies looking like those of *B. anthracis*. Very motile.
No. 4	No. 22	Chronic form.	Negative
No. 5	X (Currali-nho).	Chronic form.	Negative
No. 6	XI (Instituto O. Cruz, Branch).	Chronic form.	Negative
No. 7	XII (Instituto O. Cruz, Branch).	Chronic form.	Negative
No. 8	XVI	Chronic form.	Negative
No. 9	XVIII (Instituto O. Cruz, Branch).	Chronic form.	Negative
No. 10	XIX (Instituto O. Cruz, Branch).	Chronic form.	Negative
No. 11	XX (Instituto O. Cruz).	Chronic form.	Negative
No. 12	XVI (Observation Post and Veterinary Ward, Bello Horizonte).	Chronic form.	Negative
No. 13	XVII (O. Post)	Chronic form.	Negative
No. 14	VIII (O. Post)	Chronic form.	Negative
No. 15	Ox F. S. I.	Chronic form.	Positive. A GRAM-positive bacillus (contamination) and a Pasteurella type, larger than VRYBURG's were isolated.
No. 16	Ox F. S. I.	Chronic form.	Negative (sterile)
No. 17	Goat I	Chronic form.	Negative
No. 18	No. 26 (O. Post)	Chronic form.	Negative
No. 19	No. 56	Chronic form.	Negative
No. 20	No. 66	Chronic form.	Negative
No. 21	No. 62	Chronic form.	Negative
No. 22	Ox D.	Chronic form. (cutaneous).	Negative Positive Bacillus of VRYBURG's type and *Staphylococcus pyogenes albus* isolated.

Number acc. to Order	Number of Animal	Form of disease	Results
No. 23	Calf No. 1. Pelotas Rio Grande do Sul.	Chronic form. (cutaneous).	Negative
No. 24	Calf No. 2. Pelotas Rio Grande do Sul.	Chronic form. (cutaneous).	Negative

It must be borne in mind, however that the presence of a germ in the circulation is no decisive proof that this is the etiological agent of the disease. Negative results of blood cultures are of great but not absolute value. Positive cultures important but not decisive.

In pandemic influenza, yellow-fever, hog-cholera, influenza of horses, malaria etc., many germs having nothing whatever to do with the etiology of the diseases are found in the circulation.

As for isolation from the organs of animals succumbed to any of the clinical forms of the disease, VRYBURG's bacillus was never obtained (cf. Protocols of necropsies) except in the case of the ox D whose necropsy was carried out after those lines had been written.

The necropsies, which were numerous (approximately half a hundred, although not all of of them useful), were made according to the best rules, which exact that they should be carried out immediately after death. In some cases the animals were necropsied almost at once, the heart still warm.

The culture tubes remained sterile. In other cases all sorts of germs were isolated without any predominance of one type.

Two organs furnish almost always several contaminations.

In the first place we have the lungs, in which the ready access of atmospheric air earily explains this fact.

In the second place comes the liver. Among the germs isolated from this organ are: a small, GRAM-positive diplo coccus and a small, immovable, GRAM-positive bacillus.

The first deserves most attention because there are cases in which it is possible to isolate such a germ under aerobic conditions (glycerin agar in PETRI dishes) from the pus.

ETIOLOGY AND PATHOGENICITY.

The pathogenicity of VRYBURG's type of bacilli for rabbits is quite appreciable and its constancy in all strains studied is worthy of note.

The white rat is already less susceptible. Only a few strains are pathogenic for these animals. More or less the same may be said for guinea-pigs and calves. Pigs and even sucklings are not susceptible to considerable doses of cultures of the bacillus. With virulent cultures of the bacillus, such as some of the ones isolated directly from the abscesses, rabbit inoculations bring about with decided constancy the following syndrome: a few hours after inoculation the animals appear sad and the fur ruffled. Temperature varies. The mode of inoculation is of great importance in eliciting these symptoms and intravenous, intracardiac, intramuscular, intraperitoneal and subcutaneos injections were tried. Of these the last appears to be the most useful for our purpose.

In cultures of slight or no virulence, which are the most numerous this is the only process that in any way demonstrates the bacillus. The length of time experimental infections last varies according to the virulence of the culture of VRYBURG's bacillus and the age of the rabbits, the younger rabbits-showing a greater susceptibility. According to the culture used and the amount inoculated

anything from a slight cutaneous reaction to death within a short delay may be observed.

As a site of inoculation the ventral region was preferred. Preparatory to inoculation a great part of it was freed of fur and washed with a dilute creolin solution. When the place was dry it was painted with tincture of iodine and then the subcutaneous inoculation was made.

As a rule minute quantities of bacilli produce small local lesions of a congestive nature. Even cultures of a certain virulence require fair quantities to elicit the typical symptoms.

In exceptional cases (bacillus 66) 1 loopful would kill a rabbit of 600 germs., average weight, in 45 hours (subcutaneous inoculation). Generally 0,5 to 1 c. c. of a culture on broth or agar (emulsion in saline or in broth) kills a rabbit of an average weight of 600 grms. in 4 to 7 days. As has already been stated, shortly after inoculation the animal is sad and its fur ruffled. It eats little and huddles up at the bottom of the cage. A little more than twenty hours after inoculation a hard reddish, sometimes bluish oedema is seen round the site of injection. This oedema increases after some days and forms a real *polmão*. There are cases in which this ulcerates, voiding an unpleasant smelling haemorrhagic pus.

But mostly it remains closed until death. The regional lymph-glands are enlarged. The oedema at first hard and resistant becomes gradually more and more fluctuating until the existence of semi-liquid matter within it can be easily felt.

When the dose of microbes is insufficient or the strain of slight virulence the lesion limits itself to infiltration and exudation. There are cases in which a hard œdema is formed at the point of inoculation with or without hæmorrhagic infiltration, remains limited for some time after which it desappears, and no vestige is left. Rabbits inoculated usually lose weight. Temperature shows a tendency to decrease and may be only 36°C. and a few tenths. Sometimes even after healing of lesion animals lose weight (20 or 30 %) and die in cachexia after a number of days, usually 10 to 15 ,not more.

Lesions of animals killed by bacilli of VRYBURG's type are worth mentioning. Often the hæmorrhagic infiltration extends along the whole wall of abdomen. When the latter is pierced there is a generalised purulent peritonitis. In most cases the abscess becomes encysted and a compact mass is formed around it.

In these cases the peritoneum, also the pericardium and pleura, are filled with a serous fluid. An inflammation of the various serous membranes may occur. Of the abdominal organs the most affected are the kidneys. The capsule of these is detached with difficulty. The organ upon section shows a surface stained a deep red and letting flow a quantity of red fluid. The kidneys are enlarged, sometimes considerably so. They are frequently spotted with red.

Adrenals show nothing worth mentioning. Liver turgescent, voluminous, friable. Spleen slightly enlarged, mostly normal. In cases of purulent peritonitis with hæmorrhagic exudation, intestines are usually hyperæmic.

Lungs congested along their whole height or in zones. In some cases dark-red disseminated foci of congestion stand out typically against the pink background. Intra-cardiac inoculations are followed by acute purulent pericarditis. The needle while passing through inoculates the germ. Very often there is formed a great abscess taking up the whole mediastinum in one great block.

Inoculation of killed cultures causes a local abcesses or a serous peritonitis according to where it is inocula-

ted. In certain instances it may bring about the death of the animal.

It is very difficult to isolate the bacilli from the organs of rabbits, whereas it was always found in the abscesses, peritonitis and pericarditis, and is typically localised in the tissue.

In the pus from the abscesses of rabbits leucocytes with one lobe are dominant.

I attempted to increase the virulence by passage through rabbits, but no definite results were obtained. As was seen at the beginning of this work there are recently isolated cultures of which 1 loopful will kill a rabbit of 600 to 800 grms. in 45 hours with the typical symptoms. This was the smallest lapse of time attained, between inoculation and death of animals inoculated. The symptom-complex obtained with pure cultures of the bacillus can be obtained by direct inoculation of pus from the *polmões,* but in the latter case the violence of symptoms is doubled. There is a real pyæmia.

Intraperitoneal injections of bacilli are not always fatal for rabbits. Three rabbits, numbered 50, 51 and 52 and weighing 400, 393 and 300 grms. respectively, resisted an intraperitoneal inoculation of 2 to 3 c. c. of a virulent, mixed culture. When intraperitoneal injections are positive they produce a generalised purulent peritonitis. Intramuscular inoculation gives results similar to those of subcutaneous inoculation. Intravenous inoculations are not, and this appears paradoxical, the best for heightening the virulence of the bacilli. I have had cases in which results were not obtained (rabbit 61); 2,5 of an emulsion in 0.85 % saline solution of a culture recently isolated from a calf did not suffice to kill a rabbit.

Yet the same emulsion killed rabbits and even guinea-pigs in 4 days when given subcutaneously. What might be the exact explanation of this fact? Might bacteriolysis by phagocytes or by humoral substances be easier than under the skin? Or might the bacilli of VRYBURG's type, more used to parasiting the tissues, for some other cause find a better medium in the skin than in the blood for their first adaptation to a new organism? Or does the whole thing depend on the race of microbes and rabbits?

I believe there is a little of all this in the phenomenon (1). I have made subcutaneous and intraperitoneal inoculations with big doses of multivalent emulsions of live microbes, whose virulence had already been demonstrated in a number of experiments, with entirely negative results. On June 10th 1918, for instance, 4 rabbits were inoculated with rich emulsion of 5 strains of virulent bacilli of VRYBURG's (2 were inoculated subcutaneously and 2 intraperitoneally). The former received respectively 3 and 4 c. c. of emulsion; the latter 3 c. c. each. They did not any of them show any of the symptoms described and were observed for a long time. It is just this irregularity of pathogenic action that has prevented my experiments on sera and vaccines from giving dependable and comparable results.

White rats are for the greater part not susceptible to the bacilli of VRYBURG's type. Out of 8 strains, 6 proved to be devoid of virulence. Death is usually observed on the 10th day after inoculation. It may, however, occur about the 20th day.

There is septicæmia. From all or nearly all the organs, the bacillus can be isolated, often pure. There is exudation into peritoneum and congestion of the lungs.

Pigs and even sucklings are not susceptable to injections of this bacillus.

---

(1) There is similar fact in the case of the pest of guinea-pigs and the *Bacillus anthracis* (BESREDKA).

The same cannot be said for the pus from the *polmões* which may kill if inoculated in a sufficient quantity.

Guinea-pigs are far more resistant than rabbits. A dose from a certain culture fatal for a rabbit is not fatal for a guinea-pig. These animals, when at all susceptible, require a much greater dose. Horses are sensitive to bacilli of VRYBURG's type. It is already known that small abscesses can be obtained in colts. It must be mentioned that no results from the clinical aspect of the question were obtained even in young animals of this species. In the course of the process of immunisation it was possible to obtain interesting data perhaps worthy of being pointed out.

A few details will be given here, the more or less complete reading of which may be done in the protocols of the chapter on immunisation. The horse 13, for instance, was inoculated for the first time on August 17th 1917, after the general state of health had been thoroughly examined. The dose was 2 c. c. of an emulsion in 0,85 % saline solution of a 24 hours agar culture heated at 60ºC. during 5 minutes. The inoculation was therefore of a killed culture. Shortly after the inoculation (as the protocol shows) the animal was disturbed, sad and refusing to eat.

Inoculation was subcutaneous at the height of the left thigh. Seventy two hours later he found it difficult to move the whole left front leg. He quickly got well. Inoculations were next intravenous with killed and, finally, with live cultures. Already at the end of the twelth time rich suspension containing the bacilli cultivated on the surface of two flasks of ROUX' could be inoculated without any untoward symptoms. In the course of immunisation I observed real phenomena of anaphylaxis, due perhaps to the large percentage of agar involuntarily introduced into the suspensions Already BESREDKA (24) called attention and suggested remedies for the general phenomena of anaphylaxis seen commonly in immunisation, and principally in immunisation by intravenous injections. The technic he advises I have used with appreciable advantage not only in the present case but also in preparating precipitating sera etc. At the end of the 17th inoculation with the same technic and the same quantity of germs this animal died, with nephritis in both kidneys and suppurated in the right. In another horse (14) I inoculated subcutaneously for the first time on May 31rst 1918, 4 c. c. of suspension in saline of a 24 hours culture heated at 60ºC. during 5 minutes. There was a violent local reaction. The place was tumefied, hot and showed fluctuation. A great abscess with a foetid watery pus was formed and there was a corresponding œdema of the leg. This was reflected on the general health and there was a lack of appetite.

At the third injection, live cultures from 8 tubes of slanting agar were made use of. Only œdema was produced. Finally live cultures were injected intravenously (BESREDKA's technic) without doing any special harm to the animal.

As is shown by this brief outline, VRYBURG's bacillus is pathogenic for the horse. Even in a killed culture the bacillus does not lose its pus producing (pyogenic) property. But it must be remembered, however that the syndrome shown by horses has at most a faraway resemblance to the *peste dos polmões* of cattle. The same might be said for calves. Not all animals of this kind, even when still sucking milk, show themselves sensitive to the bacilli of VRYBURG's type. I had several completely negative results even whén inoculating massive doses of virulent cul-

tures (passage through rabbits and recently isolated). They were cultures that very often were able to kill a rabbit in 24 hours. The pyogenic property does not belong exclusively to bacilli of this type. According to BORDET (op. cit., pg. 22) pus-formation would be a general rule for any killed germ inoculated.

Table of bacilli of VRYBURG's type, Diplococcus pulmonae, Diphtheroid Bacillus and of an anaerobic bacillus inoculated in calves of at most 1 year.

Number acc. to Order	Type of culture	Inoculation	Quantity	Results
N. 1	VRYBURG's type	Subcutaneous	5 c. c. of a suspension in saline solution of a culture 24 hours old in 3 places on each side of body. Altogether 15 c. c. for each calf.	Negative. Discharged.
N. 2	VRYBURG's bacillus	Subcutaneous	Same quantity	Same results
N. 3	VRYBURG's bacillus	Subcutaneous	Same quantity	Same results
N. 4	VRYBURG's bacillus	Subcutaneous	Same quantity	Same results
N. 5	Diplococcus pulmonae.	Subcutaneous	3 places 2 c. c. on one side, 1 on the other; broth culture direct from pus.	Positive. Excessive number of abscesses, phot. n. 3, ulcerated abscesses. In the pus a small GRAM-negative bacillus was also found.
N. 6	Bacillus of VRYBURG's type	Subcutaneous	Suspension of 24 hours old culture in saline. 3 places with 3 c. c. in each, making a total of 9 c. c.	Negative. Discharged.
N. 7	Bacillus of VRYBURG's type	Subcutaneous	Same quantity do. do. 1.5 c. c. in 1 point	Negative. Discharged.
N. 8	Diplococcus	Subcutaneous	2 places, altdgether 3 c. c.	Negative. Discharged.

(Continuated)

Number acc. to Order	Type of culture	Inoculation	Quantity	Results
N. 9	Organism of the type *Corynebacterium* (*bacillus pulmonarum*) *diphtheroide.*	Subcutaneous	In one place 4 c. c.	Negative for peste dos polmões. Fever.
N. 10	Bacillus of Pasteurella type isolated from ticks.	Subcutaneous	In one place 8 c. c.	Negative. Discharged after a long time.
N. 11	Bacillus of VRYBURG's type.	Subcutaneous	In various places. Total amount inoculated 5 c. c.	Negative. Discharged cured.
N. 12	Bacillus of VRYBURG's type.	Subcutaneous	In various places. Total 5 c. c.	Negative. Discharged cured.
N. 13	Bacillus of VRYBURG's type.	Subcutanenus	In various places. Total 5 c. c.	Negative. Discharged cured.
N. 14	Bacillus of VRYBURG's type.	Subcutaneous	In various places. Total 5 c. c.	Negative. Discharged cured.
N. 15	Bacillus of VRYBURG's type.	Intravenous	5 c.c. of a broth culture.	One month and 24 days later this calf showed nothing worth mentioning. He died a few months later, whithout the necropsy revealing noteworthy lesions. It was impossible to isolated VRYBURG's bacillus from the organs.
N. 16	Bacillus of VRYBURG's type.	Intravenous	5 c.c. of a broth culture.	Negative. Discharged cured.
N. 17	Bacillus of VRYBURG's type.	Subcutaneous	10 c. c. of a suspension in 8.5 °/oo saline solution of a 24 hours culture on agar. Several places.	The animal soon appeared covered with larvae of *Dermatobia hominis*. It became dificult to tell whether there were small abscesses or the parasite. From the pus of some of the collections I isolated VRYBURG's baeill·s.

(Continuated)

Number acc. to Order	Type of culture	Inoculation	Quantity	Results
N. 18	Bacillus of VRYBURG's type.	Subcutaneous	3 c. c. of an emulsion broth (the culture itself) Several places inoculated.	Did not show anything. Discharged.
N. 19	Bacillus of Pasteurella type.	Subcutaneous	3 c.c. of an emulsion broth (the culture itself).	Did not show anything. Discharged.
N. 20	Bacillus of VRYBURG's type.	Subcutaneous and intravenous.	5 c. c. subcutaneously and 5 in the vein. Altogether 10 c. c. of a suspension in saline solution (0.85 %) of a growing culture on agar.	Died in 14 days. Did not show any polmões. Had 41°C. and a few tenths of fever (Graphic 15). Bacillus of VRYBURG's type was not isolated from organs. Cultures sterile.
N. 21	Bacillus of VRYBURG's type (ox D.)	Intravenous.	1 cc. of a suspension in 0.85 % saline solution of a 24 hours' agar culture.	Except for an immediate slight lowering of temperature, it did not show anything. Thin on arrival in laboratory. Is fatter.
N. 22	Diphtheroid bacillus (*Corynebacterium*) (ox D.)	Intravenous.	4 c. c. of growing broth culture.	Did not show anything.
N. 23	Bacillus of VRYBURG's type (ox D.)	Intravenous and subcutaneous.	1 c. c. subcutaneously and 1 in the vein. Altogether 2 c. c.	Except for a slight lowering of temperature 24 hours later nothing was shown.
N. 24	Diplococcus pulmonae (ox D.)	Intravenous.	2 c. c. of broth culture.	Nothing was shown.

(Continuated)

Number acc. to Order	Type of culture	Inoculation	Quantity	Results
N. 25	Bacillus of VRYBURG's type.	Subcutaneous	Suspension as in N. 21, 3 c. c.	Did not show anything at the time. The animal showed not one symptom of peste dos polmões. Became fat while at laboratory. Died 3 months and 10 days later during a sudden lowering of temperature from lobar pneumonia. The pneumococcus (*Diplococcus lanceolatus*) was isolated. It was not possible to isolate bacilli of VRYBURG's type.

Working with a view to obtaining high degrees of immunisation, I was able to observe some interesting facts. A calf, which shall here be named A 1, died in less than 24 hours with the intravenous inoculation of a culture killed by 5 minute's xeating at 60°C. At necropsy there were striking congestions of the lungs. Another calf, whom I will call A2, died at the 16th inoculation, 3 days after the injection had been made; at the time he had shown some alarming symptoms with nephritis and fatty degeneration of the kidneys. At the begining of immunisation, the same calf had stood, without showing the slightest symptom the intravenous injection of 4 c. c. suspension in 0.85 saline of a 21 hours culture on slanting agar, previously heated at 60°C. during 5 minutes. The fifth inoculation, which was intravenous, was already made with live bacilli and the animal did not show any untoward symptom. Another calf, A3, was at first inoculated with 4 c. c. of a mixed culture (5 types) by intramuscular injection, without showing anything abnormal: 11 days later at the second injection he withstood 2 c. c. of a live culture injected in the same manner. Many weeks later, at the 6th inoculation he died, twenty hours after an intravenous injection of 6 c. c. of a mixed emulsion. He had on previous occasions supported greater quantities of the same material without showing anything special. From the heart I was able to reisolate bacilli of VRYBURG's type. Finally I must refer to the calf A4, who immunised with 9 inoculations of increasing amonts of cultures of VRYBURG's type (including live cultures from 8 tubes of slanting agar at one time) contracted the disease upon inoculation of material from animals with the natu-

ral disease. From all this I must draw the conclusion that VRYBURG's bacillus is pathogenic for cattle. It may even kill. It provokes a disease in the animals. But it does not produce the *peste dos polmões*.

But even so it is necessary, I repeat, to work with cultures of great virulence; artificially heightened virulence, since cultures recently isolated from pus are not always virulent, or, rather are frequently devoid of virulence for rabbits. Hence the great number of negative tests. Subcutaneously they are able, even when killed, to produce minute abscesses.

It must be remembered that staphylococci are also isolated from the pus and that killed cultures of these can produce purulent collections when inoculated. Intravenous injections are more severe than subutaneous ones of bacilli of VRYBURG's. Whereas in the former recovery is a general rule, in the latter death, whether immediately or later on, is commonly seen. The cause of death in calves being submitted to super-immunisation was certainly a process of suppurated nephritis that appeared in some cases, and anaphylaxis, which made itself evident in others. The fore-going table shows also that not only VRYBURG's bacilli are able to provoke abscesses. There are also other pyogenic germs in the *polmões*, such as the *Diplococcus polmonis* «b» that are pathogenic for calves (graphic N°. 21) and that are able to produce abscesses.

I have not spoken yet of the streptococcus and staphylococcus and even of the bacillus pyocyaneus to which I will refer later.

In cattle the action of bacilli of VRYBURG'S type is very similar to its action on horses. When injected in the vein in a fair dose it produces severe lesions in oxen as in horses. I will quote yet an experiment on the pathogenic power of the bacilli. Ox 400 was a big zebu. Small doses of virulent suspensions produced nothing worth mentioning. I inoculated 50 c. c. of a 60 days' broth culture at one time. Soon after the animal showed an intense diarrhoœa with dark and fetid dejections and loss of appetite.

He got rapidly thin and very weak. He died 48 hours after the virulent inoculation with intense congestion of kidneys, spleen and lungs (accumulation of a gaseous fluid between pleura and lung). Of course I am not going to draw any conclusion as to the etiological importance of the bacilli of VRYBURG's type in the *peste dos polmões* from the facts just mentioned.

I will not refer to the action of even a bacillus coli communis in such doses. It is well not the forget the action of the broth either.

If general considerations did not alone warrant this, the following experiment with ox n°. 401 would suffice. On Oct. 14th 1919 he was inoculated for the first time with 20 c. c. of a suspension in 0,85 % saline solution of a culture of bacilli of VRYBURG's type showing an abundant 24 hours'growth on slanting agar (incubator at 37°C.), injected in the vein. The animal showed nothing worth mentioning. On the 18 of the same month 5 c. c. of abroth culture of bacilli of VRYBURG's type were injected in the vein.

Symptoms displayed by the animal were such that death was expected to ensue and the work of super-immunisation had to be put off for a longtime. It was understood also that the question of heightening the virulence must be considered under a certain criterium and within certain limits. It is well known that successive passages can confer pathogenicity to saprophytic germs to which no disease had ever been attributed.

IMMUNITY.

(BACILLUS OF THE VRYBURG TYPE).

This is a chapter which was not relegated to the background. Nothing was found on the subject in the litterature. A table is given in this work on agglutinations attempted. The technic employed was the following: cultures were first obtained on broth. After wards agar tubes were inoculated. The tubes were left for 24 or 48 hours in an incubator at 37°C. Suspensions were made with the aid of 0.85 % saline solution, previously sterilised. In a series of tubes for agglutination tests 2 c. c. of serum tested in decreasing concentrations (1/20, 1/40, 1/80 etc.) were placed. In all tubes were placed 5,6 or 10 drops of the mixture of bacteria, according to the concentration of suspension.

In all controls were allowed for the bacterial suspensions: Water-baths at 37°C. and at 55°C. were employed but the latter showed no advantage over the former. Besides agglutinations, complement fixation tests, active vaccination, serum-vaccination and serum-therapy were attempted.

From these agglutinations it may be inferred 1°) that there are numerous cases of *peste dos polmões,* natural infection, in all stages of the disease in which there are no agglutinins for bacilli of the VRYBURG's type.

2) in a case (a) of the experimental disease, obtained by inoculating ticks (triturated in saline solution) in a healthy animal, a bacillus similar to one already isolated from ticks was isolated from the *polmões* and was agglutinated, feebly, at 1/1280, by the serum of an animal with the natural disease (b).

The latter (b) had furnished the ticks with which inoculation the experimental *polmões* had been obtained (a).

3). In normal ox blood may be found agglutinins agglutinating bacilli of the VRYBURG type up to 1/640.

4). The highest titre of agglutination I was able to obtain in the serum of super-immunised animals was 1/640.

5). Some strains of bacilli of the VRYBURG type undergo spontaneous agglutination.

6). The so-called chicken-cholera bacilli may be agglutinated at 1/40 by the serum of animals with the experimental disease.

7). There are cases in which the strongest agglutinations are seen in tubes with dilutions (the explanation of this fact is too well-known to need to be gone into here).

There is also the complement fixation (25 and 26) between serum from sick animals and bacilli of the VRYBURG type. Hemolytic system used was sheep blood—rabbit.

These tests were made either between bacilli and serum from the same animal or between bacilli and serum from different animals. The completely negative results obtained oblige us to suppose that BORDET's antibodies are either very scanty or else altogether wanting in the blood of sick animals. I will exempt myself from reproducing here these attempts since no results were obtained.

Vaccination with these bacilli was also given a trial. A lot of strains of bacilli of the VRYBURG type were used to make two kinds of vaccines: on liquid culture media (broth, glycerin-broth etc.). and on solid media with a subsequent emulsion in saline solutions. Cultures were killed by heat and preserved by 0.5 % phenic acid.

These vaccines were dosed: the first in c. c. on rabbits; the second according to the KOLLE-WRIGHT technic. ROBERTSON's was not used on account of its intricateness.

A table explaining the experiments is given. Multivalent vaccines on liquid media were easily obtained. It was only necessary to inoculate appropriate culture media with bacilli of the VRY

Agglutinations

Number acc. to Order	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Controls of bacterial suspension.	Type of bacillus used in the Test.	Serum tested.
N. 1	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG a	Natural disease Calf n. 1
N. 2	+++	+++	+++	+++	+	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG b	Same serum.
N. 3	+++	+++	+++	+++	+	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG c	Same serum.
N. 4	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG a	Serum of ox Curralinho N. 2. Natural Disease.
N. 5	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG b	Same serum.
N. 6	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG d	Same serum.
N. 7	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG a	Serum ox 3 Natural disease.
N. 8	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG e	Serum ox n. 3 Natural disease.
N. 9	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG III isolated from the heart of calf killed by experimental disease.	Serum calf n. 5 Natural disease.
N. 10	+++	—	—	—	—	—	—	No agglutination	As in bacillus of N. 9.	Serum of ox superimmunised against VRYBURG bacillus (N. 1).
N. 11 (*)	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG a	Serum of calf with expe-rimental disease.
N. 12	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG b	As in II.
N. 13	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG c	As in II.
N. 14	+++	+++	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus isolated from an epizootic of chickens. *Pasteurella* type.	As in II.
N. 15	+++	+++	+++	+++	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG a	Calf n. 4 Natural disease.
N. 16	+++	+++	+++	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG a	Calf n. 5. Natural disease.
N. 17	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	No agglutination	Experimental disease. Bacillus of the VRYBURG type isolated from a polmão of ox 14, inoculated with triturated ticks of ox from Curralinho.	Serum ox n. 10 Normal.
N. 18	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	No agglutination	Experimental disease. Bacillus of the VRYBURG type isolated from ox 14, inoculated with triturated ticks of the ox from Curralinho.	Normal serum ox n. II.
N. 19	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG d	Normal serum ox n. II.
N. 20	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the type VRYBURG e	Normal serum ox n. II.
N. 21	+++	+++	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the VRYBURG type from calf 66.	Serum of calf n. 66. Natural disease.
N. 22	+++	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus isolated from tick. Different to the VRYBURG type.	Serum of calf 66 Natural disease.
N. 23	+++	+++	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus of the VRYBURG type from calf 66.	Serum of calf 64. Natural disease.
N. 24	+++	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus isolated from tick.	Serum of calf 64. Natural disease.
N. 25	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus isolated from trituration of tick.	Serum of calf n. 200. Natural disease.
N. 26	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus isolated from calf inoculated with anaerobe, n. 51 (the bacillus was anaerobic).	Serum of calf n. 200. Natural disease.
N. 27	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination	Bacillus from calf 52.	Serum of calf n. 200. Natural disease.

(*) At 1/10 this bacillus was agglutinated by this serum.

Number acc to Order	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Controls of bacterial suspension.	Type of bacillus used in the Test	Serum tested.
N. 28	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Diplococcus pulmonae.	Serum of calf n. 200 Natural disease.
N. 29	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Bacillus isolated from tick (motile)	Serum of calf n. 51 inoculated with Diplococcus polmonae?
N. 30	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Bacillus isolated from calf n. 51.	Serum of calf n. 51 inoculated with Diplococcus polmonis?
N. 31	+	+	—	—	—	—	—	No agglutination.	Bacillus of VRYBURG type isolated from a commonplace abcess of healthy ox H. W.	Same serum as in n. 29.
N. 32	+	+	+	+	—	+	+	Spontaneous Agglutination.	Bacillus isolated from rabbit inoculated with Diplococcus polmonae.	Same serum as in n. 29.
N. 33	+	+	+	+	+	+	+	Spontaneous Agglutination.	As in test n. 32.	Serum of calf n. 200. Natural disease.
N. 34	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Bacillus isolated from pus of commonplace abcess of cow n. 1 (healthy).	As in test n. 33.
N. 35	+	+	+	+	+	+	+	No agglutination.	VRYBURG type. From ox n. 14 with polmões, inoculated with triturated ticks taken from ox n. 7, Curralinho. Experimental disease.	Serum of ox n. 7 Curralinho, from which were taken ticks to infect ox n. 14. Natural disease.
N. 36	+	+	+	—	—	—	—	No agglutination.	Same as above, n. 35.	Normal serum. Calf n. 300.
N, 37	+	+	+	—	—	—	—	No agglutination.	Same bacillus as in test n. 35.	Normal serum. Calf n. 305.
N. 38	+	+	+	+	+	+	+	Intense spontaneous agglutination.	Same bacillus as in test n. 35.	Serum ox n. 309 F. Sá. Natural disease.
N. 39	+	+	—	—	—	—	—	No agglutination.	Same bacillus as in test n. 35.	Normal serum. Ox n. 306.
N. 40	+	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Same bacillus as in test n. 35.	Serum ox n. 310 F. Sá. Natural disease.
N. 41	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Same bacillus as in test n. 35.	Serum of goat n. 3. F. Sá. POLMÕES. Natural disease.
N. 42	+	+	+	—	—	—	—	No agglutination.	F. Sá. Bacillus of VRYBURG type, obtained from pus of polmões of ox n. 307. Natural disease.	Serum of ox n. 14.
N. 43	+	+	+	+	—	—	—	No agglutination.	(Motile) Bacillus isolated from triturated ticks *(Boophilus microptus* and *Amblyomma cayennensis)* taken from ox n. 310. Natural disease.	Normal serum ox n. 320.
N. 44	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Same bacillus as in test n. 43.	Serum of ox n. 310. Natural disease.
N. 45	+	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Same bacillus as in test n. 43.	F. Sá. Serum of ox n. 309. Natural disease.
N. 46	+	+	+	+	—	—	—	No agglutination.	Same bacillus as in test n. 43.	Serum of ox n. 14 (already mentioned).
N. 47	+	+	+	+	+	—	—	No agglutination.	Bacillus of VRYBURG type isolated from polmões of calf n. 26.	Serum of calf n. 26, inoculated with triturated ticks. Experimental disease, typical polmões.
N. 48	+	+	+	+	+	—	—	No agglutination.	Natural disease. Bacillus of VRYBURG type. Patrocinio.	Serum of calf n. 2, superimmunised against Patrocinio, Primitivo and Mate bacilli.
N. 49	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Same bacillus as in test n. 48.	Normal serum ox. n. 320.
N. 50	+	+	+	+	+	+	—	No agglutination.	Primitivo bacillus of VRYBURG type isolated from ulcerated lesion (polmão).	Serum calf n. 3. As in test n. 48.
N. 51 (**).	+	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Type like in test n. 50.	Normal serum ox n. 322
N. 52	+	+	+	+	+	+	—	No agglutination.	VRYBURG type. Mate bacillus.	Serum of calf n. 2. As in test n. 48.
N. 53	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	VRYBURG type. Mate bacillus.	Serum normal ox n. 323
N, 54	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	VRYBURG type. Patrocinio.	Serum of calf n. 330. Natural disease.
N, 55	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	VRYBURG type. Primitivo.	Serum of calf n. 330. Natural disease.
N. 56	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	VRYBURG type. Mate.	Serum of calf n. 33. Natural disease.
N. 57.	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Bacillus of the size of those of the VRYBURG type GRAM-positive. Isolated from pus of natural disease.	Serum of calf n. 330. Natural disease.
N. 58	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	Diplococcus. Polmonae "a"	Serum of calf n. 330. Natural disease.
N. 59	+	+	+	+	+	+	—	No agglutination.	Bacillus isolated from pus of ox D. VRYBURG type.	Serum of ox D. Natural disease. POLMÕES.
N. 60	+	+	+	+	—	—	—	No agglutination.	VRYBURG type. Same as in test 59.	Normal serum from Dutch cow in perfect condition.
N. 61	—	—	—	—	—	—	—	No agglutination.	*Staphylococcus pyogenes albus* isolated from blood of ox D.	Serum of ox D.
N. 62	+	+	+	—	—	—	—	No agglutination.	Bacillus of VRYBURG type isolated from blood of ox D.	Serum of ox D.

No. acc. to Order	Name or no. of Cattle.	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Contr. of bac. suspensions	Contr. of dil. of serum tested	Disease	Germ
63	No. 1 P.	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	Natural Disease.	B. of VRYBURG type.
64	No. 2 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	" "	" " "
65	No. 3 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	" "	" " "
66	No. 5 P.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	Experimental D.	"Diplococcus b".
67	No. 6 P.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	Reconval. n. D. 15 days after cure do.	" "
68	No. 7 P.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	Natural D.	" "
69	No. 8 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	" "	" "
70	No. 9 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	" "	" "
71	No. 10 P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	" "	" "
72	No. 3 P.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	Experimental D.	" "
73	B. B. B.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Normal ox.	" "
74	XP.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Natural D.	" "
75	XIIIP	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	N. d. Acute form.	" "

(**) N. 51—In this test the bacillus was agglutinated at 1/30.

OBS. In other tables on agglutination, where there is simply Diplococcus, Diplococcus "a" should be read.

BURG type. 48 hours after their having been placed in the incubator at 37°C. the cultures were killed by heat, 0,5 % phenic acid was added or not, and the product obtained was dosed on laboratory animals. 2 to 3 c. c. for small animals and 5 to 6 for larger animals were the fixed doses.

It was preferred to use a mixed vaccine on account of the greater rigour of the methods of verifying results and of dosing.

The bacilli were inoculated on glycerin-agar distributed in flasks of ROUX (4 or 5 strains of bacilli of the VRY-BURG type in suspension).

One loopful of the culture to be inoculated was placed in the condensation water of the medium. The flasks were then tilted in such a way as to allow the inoculated condensation water to run over the whole surface of the medium. 48 hours later growth was abundant. 50 c. c. of sterilised saline solution was placed in each flask of ROUX. The mixing of bacilli was aided with a strong platinum loop. Contents of the different flasks were mixed. The suspension contaning quantities of bacilli was heated at 60°C. during 10 minutes. A fraction of the suspension was inoculated in solid and liquid culture media and left 48 hours in the incubator at 37°C. so as to ascertain whether bacilli in emulsion had been killed. Once this had been done 0.5 % phenic acid was added. The only thing left to do was the titration of vaccine.

The titration was made by mixing on a slide a drop of normal blood and one of the suspension. This was dried, fixed and stained by the GIEMSA method. 500 red blood corpuscules were counted and then the bacteria found in the microscopic.

For this purpose the field of vision was restricted by placing a perforated cardboard in the centre of the ocular. It was easy to calculate the number of bacilli per cubic millimetre and per cubic centimetre. By an equally simple process it was possible to estimate how much saline had to be added to obtain a suspension of so and so many bacilli per cubic centimetre. According to the quantity of liquid the proportion of phenic acid to be added was established. The average concentration of the primitive bacterial suspension was of 270 billions of bacilli per cubic centimetre. This was generally diluted down to 2 to 4 billions per c. c. which was the dose used for each animal.

These vaccines contained phenic acid for preservation. From the experiments undertaken one may deduce that it is difficult to use good doses of these products for immunisation. When 8 or 4 c. c. had been injected and the rabbit died, one might be in doubt as to whether the bacterial bodies or the phenic acid had killed them. But my vaccines contained at most 0.5 % of phenic acid so that the maximum dose used, 8 c. c. and the average 4 c. c. contained respectively 0.040 and 0.020 of phenol respectively. The lethal dose for rabbits is 10 to 20 centigrammes (POUCHET [27]). The action of phenol can consequently be left aside. But on the other hand it appears to be clear that the greatest dose tolerated does not ensure high immunisation. The animal may succumb to a subsequent infection. If the dose of vaccine is higher there is a risk of losing the animal by the action of the vaccine itself. This may be expressed tersely as follows: the use of 2 c. c. of vaccine from broth or according to KOLLE-WRIGHT (greatest dose tolerated by rabbit without any danger) is insufficient to immunise a rabbit against a posterior (10 to 15 days later) lethal dose of virulent bacilli of the VRY-BURG type. The use of phenic acid cannot be taken into account for the reasons indicated. In any case I avoided always the use of phenic acid in pre-

paring specific sera for rabbits, as will be seen further on. In the case of big animals this factor does not have the same importance. In the attempts of serum-vaccination (bacteria and serum) no conclusive or even satisfactory results were obtained. Temperature and weight may vary in experimental animals as in controls. One fact alone appears to stand out: it is that relating to the necrosis of the point inoculated, much less considerable in the case of bacteria and serum than in that of bacteria alone. Serumtherapy in rabbits gave brilliant results. Together with this work will be given some experiments undertcken, The sera used were obtained superimmunising oxen, calves and horses with bacilli of the VRYBURG type. Further on I will speak of these sera with details, giving the protocols.

From these experiments it may be seen that the serum prepared against bacilli of the VRYBURG type avoids the death of rabbits even when inoculated 18 hours after a lethal dose. When speaking of the use of vaccines with serum it had already been shown that the serum had the effect of reducing considerably the local processes (zones of necrosis), Here it was demonstrated that not only when inoculated at the time but also that hours afterwards the serum could still save the animals inoculated with bacilli of the VRYBURG type (when the disease was already established).

Unfortunately in the natural disease of cattle this serum gave negative results. Animals previously vaccinated with cultures of the VRYBURG type contract the disease when subsequently inoculated with virulent material taken from animals with the natural disease. In the study of the bacilli of the VRYBURG type another line of research was also followed. It was the carrying out of necropsies and inoculation of culture media. The table given further on does not represent the total of necropsies undertaken but only a selection of those in which the inoculation of media was carried out under the best conditions e. g. necropsy immediately after death, inoculation in appropriate culture media (aerobic and anaerobic) and necropsy carried out in an appropriate sheltered place.

It is easy to understand that these precautions easily fulfilled in the cases of necropsy on human subjects are not always feasible in the case of animals, in which causes of error such as postponed necropsies, insufficient inoculation of culture media and contaminations when this inoculation is made in the open are numerous.

It must be observed that calves or oxen which died while being superimmunised are not included here. And the reason is obvious. From the blood of the heart of one of them I isolated a bacillus with all the characters of VRYBURG's.

The account of necropsies made shows that, when working under the best conditions of observation no bacilli with the character of VRYBURG's were ever isolated from the viscera in cases of the natural or experimental disease. The same connot be said for the pus.

When in live cattle it was possible to obtain bacilli with the type of VRYBURG's from the pus after death this could still be done. These bacilli preserve their vitality for a long time in the pus of abscesses of dead animals. Attention must be called to a fact observed in dead as in live animals: i. e., the apparent possibility of obtaining pure cultures of VRYBURG's bacillus directly from the pus.

At first I took this to be really the case.

But now after some experience, I accept another explanation of the facts; the truth is that bacilli of the VRYBURG type do not exist alone in the pus. Upon direct examination not once did I ever

Experiments on Vaccination against Bacilli of the VRYBURG Type.

Number acc. to Order	Animal	Weight	Date of Vaccination	Inoculation	Quantity and quality of Vaccine.	Results	Observations
N. 1	Rabbit	455 grms.	Feb. 23 1918.	Subcutaneous.	4 c. c. of a mixed culture on broth.	Found dead on Feb. 24. 1918.	
N. 2	Rabbit	550 grms.	Feb. 23 1918.	As for n. 1.	2 c. c. of same	Found dead on Feb. 24. 1918.	
N. 3	Rabbit	405 grms.	Feb. 23 1918.	As for n. 1.	2 c. c. of same	Resisted.	Was reinoculated intraperitoneally on March 5. 1918, with 2 c. c. of a live culture of bacilli of the VRYBURG type. Died on March 9 1918.
N. 4	Rabbit	1.255 grms.	Feb. 23 1918.	As for n. 1.	8 c. c. of same	Found dead on Feb. 24. 1918.	
N. 5	Rabbit	2.040 grms.	Feb. 23 1918.	As for n. 1.	2 c.c. (2 billions) of vaccine KOLLE-WRIGHT. Phenicated saline solution.	Resisted.	15 days later was given an intraperitoneal inoculation of 4 c. c. of a cultured of the VRYBURG type. Died 14 days later. Perihepatitis chronic peritonitis.
N. 6	Rabbit	1.870 grms.	Feb. 23 1918.	As for n. 1.	2 c.c. of a mixed broth culture. Multivalent.	Resisted.	10 days later was given inoculation of 3 c. c. of a live culture of VRYBURG type. Died within 5 days, on March 3 1918.

Attempts at Serum—Therapeutics.

Number acc. to Order	Animal	Quality and quantity of cultures	Inoculation	Quantity inoculated	Length of time experimental disease lasted	Weight	Results	Observations	Date and hour of inoculation	Serum of superimmunised horse	Serum of superimmunised calf
N. 1	Rabbit	Mixed cultures of bacilli of VRYBURG's type 3 types.	Subcutaneous	1 c. c. suspension in saline	Less than 24 hours Found dead Jan. 29, 1918.	545 grms.	Death	Bacillus of VRYBURG's type isolated from peritoneum	2 p. m. of Jan. 28 1918	None injected.	None injected.
N. 2	Rabbit	As in N. 1.	Subcutaneous and intraperitoneal	1 c. c. suspension in saline	Lasted 22 days Feb. 19/1918.	1,132 grms.	Death	———————	2 p. m. of Jan. 28/1918	As in n. 1.	As in n. 1.
N. 3	Rabbit	As in N. 1.	Subcutaneous and peritoneal	1 c. c. in suspension in saline	Nothing observed except that animal appeared a little sad	780 grms.	Discharged cured Feb. 26 1918.	18 hours later intraperitoneal inoculation of 16 c. c of serum	As in n. 1.	Serum of horse n. 1 injected.	None injected.
N. 4	Rabbit	As in N. 1.	Subcutaneous	1 c. c. in suspension in saline	As in N. 3.	562 grms.	Discharged cured Feb. 26 1918.	As in n. 3.	As in n. 1.	None injected.	Serum of calf n. 1 injected.
N. 5	Rabbit	Mixed cultures of VRYBURG's type 3 strains.	Subcutaneous	1 c. c. in suspension in saline	Nothing observed except that animal appeared a little sad	600 grms.	Discharged cured Feb. 26/1918.	Intraperitonial inoculation of 10 c. c. of serum at the time and of 10 c. c. 24 hours later	2 p. m. of Feb. 28 1918.	None injected.	Serum of calf n. 1 was injected.
N. 6	Rabbit	As in n. 5.	As in n. 5.	4 c. c. of suspension like that of n. 5.	Died in less than 24 hours. Found dead June 15/1918.	1.570 grms.	Death	Bacillus with characters of VRYBURG's reisolated	Afternoon of June 14/1918.	None injected.	None injected.
N. 7	Rabbit	As in N. 5.	As in n. 5.	2 c. c. of suspension like that of n. 5.	Death in 5 days. June 19 1918.	500 grms.	Death	———————	As in n. 6.	None injected.	None injected.

find one species alone in the preparations. And a great deal of material was thus examined.

In cases in which there was an apparent possibility of isolating only Bacilli of the VRYBURG type, anaerobic culture media were able to demonstrate the contrary.

Another point that called for investigation was the existence of bacilli of the VRYBURG type in commonplace abscesses and in those artificially obtained. This I attempted in a series of experiments which may already be considered definitive.

Abscesses on avowedly healthy cattle were examined. Animals used for this purpose (dutch) were kept in stables at a time when no epizootics occurred, adult and previously subjected to extensive observation. From this normal cattle, irre from «*peste dos polmões*» and having only commonplace abcesses, quickly and easily removed, it is possible to isolate bacilli of the VRYBURG type, i. e. non-motile, GRAM-negative bacilli, not infrequently staining at the poles, forming non-confluent, transparent rounded colonies after 24 hours on agar, pathogenic for rabbits in which they elicit the syndrome already described etc.

From abscesses artificially obtained with the aid of turpentine no such bacilli could be isolated, although preparations revealed a bacillus with the same morphologic characters. The sterility of inoculations I attribute to the action of the turpentine.

TOXINS.

There only remains to speak of the toxins of the bacilli of the VRYBURG type.

The toxic action of killed cultures was more or less demonstrated in the inoculations for superimmunisation. Small laboratory animals (rabbits) had already shown themselves susceptible to these killed cultures.

I may add that filtered cultures of one month's standing (30 to 40 days) are able to kill rabbits and guinea-pigs (CHAMBERLAND filter). The evolution of the disease caused lasts 12 to 15 days.

Lesions are congestive (liver, kidneys, lungs), exudation towards the serous membranes, chiefly the peritoneum in the case of subcutaneous inoculations. Intravenous and intraperitoneal injections appear to be more severe than the subcutaneous. But it is possible to kill a guinea-pigs of 500 grms. weight in 12 days with 3 c. c. of filtered cultures given by subcutaneous inoculation.

OTHER ORGANISMS FOUND IN MATERIAL FROM ANIMALS SUFFERING FROM «PESTE DOS POLMÕES».

Many other micro-organisms are to be found in the pus and viscera of diseased animals besides those of the VRYBURG type.

Research was undertaken not only on animals with the the experimental disease but also those with the natural infection, and comprised cattle goats and the ordinary laboratory animals. In some cases these organisms were used for tests on immunity and pathogenicity.

This was once of the most exacting parts of the work undertaken. Research had to be patient and delayed in isolating and studying comparatively the germs found in *peste dos polmões;* besides bacilli of the VRYBURG type I was able to isolate about 12 different types of micro-organisms from the virulent material of diseased animals. The frequent occurrence and isolation in pure cultures well enables some of these micro-organisms to vie with those of VRYBURG.

MICROBIOLOGY.

The following species are studied more or less minutely:

1). DIPLOCOCCUS POLMONIS— var. *a*.

2). DIPLOCOCCUS POLMONIS — var. *b*.

3). Bacillus of BIENSTOCK type.

4). Minute GRAM-positive bacillus.

5). PASTEURELLA.

6). Motile GRAM-positive bacillus of *B. anthracis* type.

7). Staphylococcus pyogenes albus, aureus and citreus.

9). STREPTOTHRIX POLMONIS.

8). DIPHTHEROID BACILLUS.

10). BACILLUS PYOCYANEUS.

11). Small GRAM-negative bacillus, strictly anaerobic.

12). STREPTOCOCCUS.

The STREPTOTHRIX POLMONIS will not be gone into with detail since it is found very infrequently in the pus of the *polmões*, chiefly after passage through rabbits (in the pus of calf 56, it was found).

It was isolated from the pus of a closed suppuration in the wall of the abdomen of a rabbit inoculated with infectious pus.

It is stricly anaerobic and devoid of virulence for calves. Direct examination of pus shows short forms with the shape of VV, having one branch shorter.

Pure cultures from anaerobic agar show long forms (as well as short ones), with different granules.

DIPLOCOCCUS POLMONIS. VARIETY a.

While studying the *peste dos polmões*, convinced as I then was of the specificity of VRYBURG's type of bacilli, it came as a surprise to me to find that often the culture media (agar for aerobes) remained sterile after inoculation. In other cases, the media for aerobes, agar, serum-agar etc., showed, 8 or 10 days after reinoculation, numerous small colonies, pure from the first, of a small GRAM-negative diplococcus of 0.5 to 0.8 micromill. of size.

In reality this organism has not the true diplococcus form but rather that of a dumb-bell (halleridium).

Very often it is the only organism isolated on aerobic media (agar) from the pus of the *polmões* (PETRI dishes at 37°C.).

Media containg glycerin are of use (PETRI dishes with glycerin-agar). In this the colonies remind one of those of bacilli of the VRYBURG type (cf. photo).

The colonies are rounded, with clear cut edges, transparent with a reticulum as internal design (10th. day after inoculation).

The transparency of the colonies is a serious source of difficullies for microphotography.

Examination under high power (objective 66, ocular 4 ZEISS). shows the colonies to be flat, making a whole with the medium.

Diplococcus a lives well on media for anaerobes, especially in broth, in which growth is abundant.

Inoculated in solid media for anaerobes the colonies are extremely minute.

In 24 hours it produces clouding in broth media (anaerobic growth).

This organism may also appear in short chains, or as elongated cocci, looking like bacilli. Polymorphism is marked.

It grows well in cultures together with the Diplococcus I shall call *b*, with the bacilli of the VRYBURG type and those of the BIENSTOCK type.

It resists 79°C. during 10 minutes, but is killed by 10 minutes exposure to 86° or 89°C.

Serum of diseased animals (natural and experimental) does not agglutinate this organism.

It is not pathogenic for calves, rabbits and guinea-pigs.

DIPLOCOCCUS POLMONIS. VARIETY b.

In certain cases in which pus from the *polmões* was inoculated in tubes of VIGNAL containing agar and on ordinary slanting agar for aerobes, it was easy to distinguish in the former a crowd of minute colonies, among which could be seen here there a larger colony. The culture medium was split by the gases produced.

All have a similar appearance, uniform white, sometimes with slightly darkish centers. They are colonies of Diplococcus b. The odour exhaled from these tubes is the same as that of the *polmões*.

Ordinary slanting agar for aerobes remains sterile.

At first I did not distinguish this organism from the one just described (variety a), which is the more explainable on account of the ease with which the Diplococcus b unstains by the GRAM-method, chiefly in artificial culture media.

Subsequent studies comparing the two forms, carried out for the greater part at the Institute of Hygiene in Pelotas, State of Rio Grande do Sul, showed me the mistake.

In this paper are given 2 microphotographs showing clearly the two species.

Diplococcus *b* is much larger than the type *a*.

When developed it is about 1,5 to 1,8 micromills. of size.

It remains stained by the GRAM-process. But if the action of the alcohol is protracted it may unstain. This character is more evident when the organism is taken from artificial culture media.

This is the reason why in certain smear preparations from cultures of the germ the first impression is of three different organisms (impure cultures).

Careful observation soon shows the error. Diplococci are to be seen in which one of the two cocci is unstained and the other not.

This aspect is also not infrequent in the pus of the *polmões*, so that in preparations from one abscess or from one culture groups of GRAM-positive and GRAM-negative diplococci are to be found according to the thickness of the smear at the place examined and the action of the alcohol.

Cases examined with the object of finding the *Diplococcus b* were sucessful 44 times. These were mostly cases of the natural disease, although I had some cases of the experimental too, and all sorts of material was used (pus, viscera, ticks, etc.).

In commonplace abscesses of cattle, subjected to no proven influence of the disease, the diplococcus was not found.

At time the *Diplococcus b* is extraordinarily plentiful in the virulent material. It predominated, for instance, in preparations of the pus of ox IX, of calf n. 66, of calf n. 8 etc. etc.

It is extremely polymorphic.

Like the *Diplococcus a* it is positively not a finished type of diplococcus but has rather the shape of cocci forming dumb-bells or figures 8 in which the connecting bar is extremely reduced.

Sometimes it is to be seen budding, at others as a single ovoid or round element, in chains looking like streptococci, of 3 to 5 elements, and even with such slender ends as to look like a short GRAM-positive bacillus.

In some colonies veritable zoogloœ are to be seen, and from one coccus there arises often a short filament as if it were a bacillus. There are shapes like the wick of a candle. In others the pure bacillus form dominates.

From this one may see that the poly-

morphism of this organism is extremely marked.

When taken from solide culture media it is not motile but when it is taken from liquid media (broth, for instance) it is motile.

It dies off at 90°C. It lives quite welf in cultures together with all the other organisms of the *polmões,* particularly with the *Diplococcus a* and the VRYBURG type of bacilli.

There is no growth on ordinary acrobic agar except in rare instances and even in these growth is backward.

There is clouding within 24 hours in ordinary broth covered with a thin layer of liquid vaselin. In these tubes gas may be produced.

When associated with other organisms it grows on ordinary aerobic broth

Clouding becomes more and more intense and at the end of 12 or more days there is an abundant, sandy sedimentation made up of two zones: a peripheric brownish-white zone and a central black one. In some cases the zones are mixed and there is a sediment with a general brown colouring.

From these cultures a characteristic smell is exhaled. It reminds one of that of the *polmões* and becomes more intense as the time goes.

Reinculated on different aerobic and anaerobic media it grows on some and not on others.

Sabouraud's medium, liquid for aerobes: does not grow.

Sabouraud's medium, liquid for anaebes: does not grow.

Sabouraud's maltose medium, solid: does not grow.

Milk, anaerobic: coagulated in 24 hours. There is immediate separation of serum.

Medium with neutralrot: minute dark colonies without a halo form a veritable «dust» in this medium. Discoloration and gases in 24 hours:

Petruschky: becomes more bluish in the next 24 hours. After 4 days there is complete reddening.

Aerobic broth: homogeneous clouding in 24 hours.

Löffler serum: growth. Colonies are dark after a short while.

Ordinary slanting agar for aerobes: no growth.

Ordinary aerobic agar, stab: abundant growth. In 24 hours a cloud is formed along the stab. This increases in the next 48 hours.

Potato, for aerobes: no visible growth.

Ox-serum agar, for aerobes: very scanty growth. Numerous minute, sparse, translucid round colonies 48 hours after inoculation. Marked polymorphism is displayed by the organism in this medium.

Horse-serum agar for, aerobes: as in ox-serum agar.

Gelatine: dissolved in 24 hours in tube.

Glucose-Barsiekow: turns red in 24 hours, ferments in 48 hours; no gases. Slight coagulation of medium. In 4 days complete coagulation and abundant gases.

Lactose-Barsiekow: reddens slightly in 24 hours. Discoloration present. In 4 days coagulation and gases.

At times inoculation of *Diplococcus b* in broth appears sterile in the next 24 hours and only 48 hours later can a clouding of the medium be perceived: this becomes more accentuated as the time goes.

Could the delay be due to an adaptation to the medium?

When pus from the *polmões* is inoculated in many culture media often the greater part remains sterile. In these cases broth is just the medium that enables growth of organism.

And it is exactly on account of the presence of *Diplococcus b* and the absence of other organisms that these results are obtained.

Diplococcus b does not go through CHAMBERLAND filters (50-55 of pressure—Adnet water-pump).

It is agglutinated up to 1/80 by serum of diseased animals.

Serum of reconvalescents, even 15 days after cure, may still agglutinate at 1/20.

Normal ox-serum agglutinates *Diplococcus b* at 1/10.

Diplococcus b is pathogenic as regards guinea-pig, rabbit and calf.

This is a fundamental difference as against var. *a*.

Work was done as follows:

Anaerobic broth cultures of the *Diplococcus* were verified on a smear preparation (GRAM-strain) and inoculated on ordinary aerobic slanting agar.

The tubes were placed in the incubator.

As soon as inoculations had proved that there was no contamination animal experiments were carried out.

The syndrome elicited in these animals, except in calves, is very similar to that caused by bacilli of the VRYBURG type.

An animal inoculated with cultures of the Diplococcus (0,5) shows already after 24 hours redness and swelling of the site of inoculation (usually the abdominal wall).

This became progressively worse until in a short while there was a veritable *polmão* to be seen.

The disease lasts from 13 to 15 days.

Animals become sad, have a ruffled fur and refuse to eat.

Palpitation of abdominal wall (site of inoculation) causes pain.

Very often the *polmão* exulcerates, voiding fetid pus of a fluid, semi-fluid or pasty consistence, white or salmon coloured (with streaks of blood).

There may be necrosis of the abdominal wall, starting from the point of inoculation.

Examination of the abscess shows it to be surrounded by a strong fibrous sheath, like the one seen in the *polmões* of cattle .

Animals die extremely emaciated (see chart of rabbit n. 2).

Pus from these abscesses may cover great distances and come and produce a salience at a point far from the principal focus.

Such a case was that of rabbit n. 19 P., whose inoculation had been made towards the middle of the abdomen, on the left.

The necropsy 15 days after inoculation showed that the pus had undermined the deep-seated aponevroses and respecting the peritoneum had come to the neck and tail where it formed a protrusion.

Rabbits may show enlargement of lymph-nodes in the neigh-bourhood and exudations towards the serous membranes (peritoneum, pleurae and pericardium). There is often a multiple inflammation of the serous membranes.

Lungs show zones of congestion and even disseminated foci of suppuration.

There are cases of hæmorrhagic peritonitis and pleuresy with inflammatory lesions round organs in the cavities. Congestion of other organs.

The following is the résumé of a necropsy:

Rabbit n. 503 (inoculated on Dec. 17th. 1919) with an anaerobic broth culture of *Diplococcus b* isolated from calf n. 56 (*) and killed on Dec. 23rd 1919. Extreme emaciation; bluish, fluctuating ulcerated and fetid swelling at side of inoculation.

Œdema of the rest of the abdominal wall outside inflammatory zone.

Local pus viscous, fetid, salmon-coloured. Heart apparently normal. Lun-

(*) Agar-cultures from pus and organs of this cal remained sterile.

gs congested. Kidneys enormous, turgid; at section is seen intensely red surface from which runs a dark-red fluid.

Cortex and medulla undistinguishable.

Apperance of kidneys resembles that seen in some cases of the natural form of VRYBURG's disease.

Liver turgid, soft, dark red.

Spleen and adrenals show nothing worth mentioning.

Generalised peritonitis.

Aerobic inoculation of pus and kidneys remained sterile. From the heart were isolated commonplace germs.

Anaerobic cultures of *Diplococcus b* could be obtained.

Diplococcus b is reisolated from pus organic fluids, and viscera of animals experimentally inoculated.

From some organs pure anaerobic broth cultures can be obtained a first inoculation, while, as in the case of cattle, the aerobic culture media (agar etc.), remain sterile.

In guinea-pigs effects are similar, though less severe. They are more resistant to *Diplococcus b*. Even when a large *polmão* has been formed, with the ensuing gangrene of tissue, the guinea-pig may survive.

From the local pus the *Diplococcus b* is isolated, alone or associated with Pasteurella forms, GRAM-positive becillus etc.

There is one fact however gives a superiority to *Diplococcus b* in the lesions of VRYBURG's disease, besides the characteristic smell of its cultures; this in its pathogenicity for cattle.

Even bacilli of VRYBURG's type do not have so much pathogenic power.

Those who have worked with bacilli of the VRYBURG type know that it is only possible to obtain lesions and death in cattle by using great quantities of bacilli and cultures the virulence of which has been heightened by passage through rabbits or guinea-pigs. Even cultures just isolated from cattle are devoid of virulence under the most favourable conditions.

Recently it has been attempted to heighten the virulence of the bacilli of the Pasteurella type by inoculating in cattle the peritoneal exudate of rabbits killed by this organism.

This technic is sufficiently imperfect to dispense being discussed.

It is enough to remember that in lesions of animals inoculated with pure cultures of certains germs almost always other organisms have managed to get in.

The mere lowering of resistance may provoke invasion and death of ann organism by germs living until then as saprophytes of the tissues. The bacillus for many years thought to be the etiological agent of the septicaemia of rabbits, may be isolated from the viscera of rabbits, which die 24 to 48 hours after having been inoculated with a weak solution of lactic acid.

Inoculation of pure cultures of *Diplococcus b* produces lesions from which it is possible to isolate other micro-organisms including bacilli of the Pasteurella and VRYBURG types.

But it must be borne in mind that often direct examination of pus seems to show a great many GRAM-negative micro-organisms like those of VRYBURG's and yet no such bacilli had grown on numerous culture media inoculated, except in broth. These media were agar, potato, SABOURAUD, LOEFFLER, etc. This mistake is due to the polymorphism and polychromasy of the *Diplococcus b* in smear preparations.

Diplococcus b requires no heightening of virulence. Inoculation of pure cultures, many days after reinoculation, produces in cattle typical *polmões* of different sorts and sizes, from those of fluid pus and considerable size to small abscesses with thick pus.

The latter, like some of the absces-

ses of the natural disease, give the same feeling to the fingers as that of a common lymph-node, slightly enlarged, hard and resistant.

Often they remain like that for many days (1 month or more). This shows how virus-carriers (in the natural infection) may perpetuate the disease. Calves thus affected have a temperature expréssing well the condition (cf. calf. n. 21P), and are emaciated and weak although they do not refuse to eat. Graphics of temperature also express well the condition (cf. chart n. 2P).

Death may be the conclusion of this condition.

From the peripheric blood, from the viscera and the local pus *Diplococcus b* may isolated; in the pus it may be alone or associated with other organisms.

Sometimes in a series of tubes inoculated with material taken in the tissues the solid culture media remain sterile and there is growth only in the broth media.

At the beginning of the formation of abscesses after inoculation with *Diplococcus b* it is only possible to isolate this organism. Gradually as the lesion evolves other organisms make their appearance. These are the already know aerobes and anaerobes.

Necropsy of cattle killed by *Diplococcus polmonis b* shows:

Considerable emaciation. Lemon-yellow exudate in pericardium. Spleen stained yellow on its whole surface. Liver do. Kidneys voluminous, surface of section dark red hardly allowing the eye to distinguish cortex and medulla. The vestiges of cutaneous abscesses are palpable.

Diplococcus polmonis b isolated from viscera

BACILLUS OF BIENSTOCK TYPE.

Among bacilli often seen in smear-preparations of the pus some sporulated racket-shaped bacilli make themselves conspicous.

During a long time I struggled to isolate this organism from the host of germs present in the pus.

In truth, I did not believe there was any connection between this organism and the etiological cause of the disease. Yet the lines on which this research-work had been planned from the outset obliged me to investigate this subject more carefully.

The bacillus is GRAM-negative and virulent for guinea-pigs, rabbits and cattle.

It resists 10 minutes heating at 79°C.

It is killed by 10 minutes at 86-89°C.

This power of resistance is an excellent means for isolating it from amongst the remaining organisms of the *polmões*.

Inoculated in anaerobic broth it grows with ease in the incubator at 37°C. producing clouding of the medium and giving long filaments more like micelia.

It does not grow in media for aerobes.

In anaerobic growth after a short while sedimentation sets in and after 27 days the rich sand-like sediment is complete and the medium is left clear.

In the sediment a great quantity of spores of different shapes and sizes is found. These are spindle-shaped, rackt-shaped or round.

Germination is acccomplished at one or at both poles of the spore.

From some of the aspects of these in cultures or smear-preparations one might take them for tetanus spores.

Experiments, however, as has been seen, immediately eradicate this supposition.

The bacillus is long and has rounded extremities.

MINUTE GRAM-POSITIVE BACILLUS.

More seldom a minute GRAM-positi-

ve bacillus with agar cultures looking like those of the Diplococcus polmonis is isolated from the abscesses.

After 15 days of growth on glycerin agar colonies look like dew-drops spread over the medium. Growth is very slow. Only once was this bacillus obtained in pure culture from the *polmões*. Later I found that in commonplace abscesses of healthy cattle the same organism is found.

MICRO-ORGANISM OF THE (CLASSIC) PASTEURELLA TYPE.

In this point I have followed TOM and TREVISAN's designation when they had isolated a great group of germs, the pathogenicity of many of which is doubted nowadays. This group was first established by HUEPPE, with the name of hæmorrhagic septicaemias. The organism isolated has all the characters of the group: GRAM-negative, non-motile, vacuolised, larger then bacilli of the VRYBURG type and so forth.

It was isolated once from the blood of an ox with the chronic disease, cutaneous modality (culture from blood n. 15). Its morphologic appearance was like that of the pest-bacillus. It appears to have no action on calves and rabbits. Intravenous and subcutaneus injections of blood containing this organism appear to have no effect on cattle and rabbits.

GRAM-POSITIVE BACILLUS OF B. ANTHRACIS TYPE.

From the ox that furnished the pasteurella, I also isolated from the blood a GRAM-positive bacillus, with sharply cut-off ends either alone or in numerous chains, *very motile*.

This was, however, tho only time I was able to obtain it from the blood of animals with *peste dos polmões*.

In 24 hours it produces complete clouding of a broth medium; there is formed a thick pellicle on the surface of the medium, and in a short time (2 to 4 days), a thick flocculent sediment. This bacillus grows with the same ease in other laboratory media, particularly on potatoes, on which it forms a thick whitish layer, and a thick sediment at the bottom of the tube.

On agar the colonies remind of one those of B. anthracis from the blood (12 hours).

From the pus of the *polmões* this bacillus is fairly frequently isolated. Its isolation from the experimental lesions of rabbits is also easy. In some cases it even becomes quite a hindrance to the isolation of other micro-organisms. Hardly have the colonies of others made their appearance when those of this one have already overrun the whole PETRI dish. In the kidney of an ox, in the region of the bodies of MALPIGHI I found bacilli with the same morphological characters as these. The animal had been through a long agony (chronic form), which might explain this fact, I think.

STAPHYLOCOCCUS AND STREPTOCOCCUS.

Staphylococci were isolated, of the different varieties, *albus, aureus* and *citreus*.

Streptococci may be obtained less often than the former from animals with *peste dos polmões*.

It is even astonishing that these organisms should not be isolated always from the abscesses, the blood and the viscera. They are pyogenic par excellence and under certain circumstances extremely pathogenic for cattle. I will not detain myself in the study of them as they are only too well known.

DIPHTHEROID BACILLUS.

This bacillus is of a noteworthy frequency in anaerobic media inoculated with pus from the *polmões*.

It is a strict anaerobe. A microphotograph of a smear preparation from a pure culture of this bacillus is given. Different granules are to be seen in the bacterial body.

At first I took it to be a microsiphonate, but careful study soon removed this supposition.

I have included it in the group of the diphtheroid bacilli. It appears some times in bundles or heaps. In smear preparations long filaments or single bacilli with rounded ends are to be seen. It is particular as to culture media. It requires at least a tall column of agar or preferably of ordinary broth (though horse-serum agar is better) or else LIGNIÈRES' agar.

Broth media must be covered with a layer of liquid paraffin, previously sterilised. Nevertheless growth takes place at the bottom of the tube where a flocculent sediment is formed. Superficial layers of the medium remain transparent (10 or 11 days of growth). In anaerobic agar it develops well, giving small irregular colonies with a dark centre. It is not pathogenic for rabbits and calves.

BACILLUS PYOCYANEUS.

This well-known bacillus will not be described here.

SMALL GRAM-NEGATIVE BACILLUS.

From the pus of the *polmões* I isolated yet a small GRAM-negative bacillus distinguishing itself from those of the VRYBURG type by its absolute necessity for anaerobic media in which to grow.

ULTRAMICROSCOPIC GROUP FILTERABLE ORGANISMS.

Besides the visible organisms I was able to demonstrate the presence of a filterable virus in the virulent material.

I believe the determination of this kind of pathogenic agent to be of capital importance in the decision of therapeutic and prophylactic questions.

And here this was once more the case.

Vital questions of general biology are condensed in that of the filterable virus so much more important than might at first be thought. In the first place it may be remembered that once the virus is proved to be filterable, ipso facto the almost absolute majority of micro-organisms described up to now can be left aside, not to mention that the knowledge of the general properties of the filterable virus allows at least efficient preventive measures to be put into practice.

But it seems to me that it is excessive to expect to describe an organism of a disease ascribed to a virus filterable and invisible in the present state of our knowledge.

It is enough to remember that the organism of chicken-pest will go through BECHHOLD's ultra-filter nº. 5. (which holds back hæmoglobin) and must measure from 2,5 to 2,4 millionths of a millimetre, a dimension which no apparatus of physics enables the human eye to perceive.

And there is still more. With virulent material diluted in the proportion of 1 to a 100 millions it is yet possible to infect healthy animals. What chemical reaction processes itself at this dilution? The subject has many useful things to teach and if in some respects we must confess our ignorance this does not reflect on the scientific investigator.

The appearance of the organism is of no matter. If the bacilli of yellow fever, of hog-cholera those of HAVA, of THOINOT and CALMETTE, the cocci and bacilli of ARLOING, the micrococcus of RIVOLTA where still credited medical science would have made no progress in the last 40 years.

And it was this point of view consolidated by NICOLLE, CONOR, COMTE and CONSEIL that pointed the way to definitive research on exanthematic typhus.

And it was also this point of view established by UHLENHUTH, HUEBNER and XYLANDER for cattle-plague that led MARQUES LISBOA to his brilliant results in the therapeutics and prevention of the disease.

And it was this also that led LOEFFLER, to establish a method of treatment for foot-and-mouth disease which has already given such excellent results in the hands of MARQUES LISBOA on cattle in this country.

If these results had been expected from vaccines prepared with the bacilli of HAVA, cocci of RIVALTA etc., new disappointments could be added to those already suffered. And a belief in the PFEIFFER Bacillus left Public Health Departments all over the world powerless to cope with the pandemic spread of influenza.

The outline of a micro-organism may be of no account if results of importance are obtained without its knowledge. And the discovery of the bacilli of Tuberculosis and Leprosy have not given decisive results in the treatment of these disease.

Serum-therapeutics against pneumococci is a thing of our days and yet the pneumococcus was known from the beginning of PASTEUR's time.

And is it not of more use to know the biology of an organism, its general properties as in the case of the filterable virus?

The micro-organism of Rinderpest is unknown and yet there are decisive means of treatment and prevention. The organism of hydrophobia is as yet unknown and yet PASTEUR's vaccine is still to-day one of the greatest gifts to humanity.

The virus of yellow fever was unknown (1). It was known to be filterable. Its biology was known.

With this alone OSWALDO CRUZ stamped out the disease in a great part of Brazil.

The form of the organism of exanthematic typhus was unknown when NICOLLE pointed out the means of prevention by destroying lice, the carriers of the virus. Vaccination according to JENNER was known for centuries when ARAGÃO and PROWAZEK wrote their paper.

And this is why after having laid aside one by one the visible organisms found in the *peste dos polmões* I attempted to find out if the agent was not one of the filterable virus.

But I did not limit myself to concluding the role of the filterable virus.

Once the visible bacteria had been put aside and the filterability proved other attempts were made in accordance with the works of NOGUCHI, FLEXNER LEVADITI, RICKETS and others, No spirochaete-granulations, globoid bodies, granules of RICKETS were found.

Filtering was done as follows: CHAMBERLAND and BERKEFELD filters were used after checking with water or with other already known microbes. This material was sterilised at the temperature of a 120ºC. during 20 minutes.

For the vacuum an American compression and aspiration apparatus or an ordinary water pump was used. When the water-pump was used the rule was to place a safety tube between the aspirating tube and the glass with the filtered material. The virulent material was filtered on the same day that it was obtained. The material about to be filtered was diluted in 8,5 o/oo saline solution. After the dilution had been made a

[1] NOGUCHI ascribes yellow fever to *Leptospira icteroides*.

healthy animal was inoculated so as to control the pathogenicity of the dilution, if it had not already been proved in other inoculations.

After filtering, the material which had passed through was inoculated in various culture media (including media for anaerobes). NOGUCHI's medium was made use of consistently, but the difficulties in the handling of this medium prevent our negative results from being considered definitive.

In the experiments tending to prove the existence of a filterable virus rigourous methods of work were adopted so as to avoid the results' being put into doubt in the future. Consequently as the place in which I had been working might be supposed to be infected the filtered material was got ready and the experiments were taken up on some grounds, at about 3 kilometres from the laboratory, and which were immune.

The filtered fluid was taken quickly to the place in which experiments were made after its sterility had been checked, so that the tests were decisive.

Filtering was done at low pressure and as quickly as possible. The quantity of filtered fluid inoculated varied between 20 and 40 c. c. Joint subcutaneous and intravenous injections were made as the important issue was to prove the virulence of the material.

It may be of use to mention that animals for this as for other experiments were kept in stables under observation for some time. They were kept until the disease had run its whole course, so that a thorough disinfection after each experiment was possible. The risk of contagion was consequently very slight, if it existed at all.

One of the positive results obtained with the filterable virus was calf nº. 39. A demonstrative chart of this animal is given.

The temperature was already being observed, when, on Jan. 15th. the calf was inoculated. A few days later, on the 18th., the reaction set in and the temperature attained 41ºC..

An intense, dark and fetid diarrhœa set in and last a long time.

These were the only symptoms. There was a period of incubation, a fastigium (48 hours) and a gradual decline of the temperature. The animal lost weight but survived the inoculation. He was discharged after some months of daily observation. This was evidently a light case of the disease in its intestinal modality. The same results had been obtained by the inoculation of unfiltered pus in healthy animals. In the chart of calf nº. 39 can be seen some irregularities of temperature after the pyrexia, just like in the natural disease.

A very similar case is that of calf nº. 58. Inoculation was made with a suspension in 8,5 o/oo of the pus of calf 56 (natural disease, chronic form, cutaneous modality) passed through BERKEFELD filters. A joint inoculation of 10 c. c. intravenously and 20 c. c. subcutaneously was made. After an incubation of 10 days the animal showed a typical and persistent pyrexia (41ºC.) and furthermore the most characteristic oscillations of temperature that had been seen up to that time. It is easy to compare this temperature chart with that of a normal bullock (cf. chart of ox nº. 20).

This was another pure benign case of *peste dos polmões* (chronic form.).

The same may be said for chart 10. Nº. 53 is rather interesting. During about 16 days this animal's temperature was taken note of. It was never seen to rise higher than 40ºC.. On the afternoon of the 19th an inoculation was made with the filtered (BERKEFELD filter) emulsion in 8,5 o/oo saline solution of the viscera of calf nº. 56 (natural disease, chronic form, cutaneous modality). On the 22nd (3 days later) the temperature began to go up, rising above 40ºC.. From then on the temperature

was always seen to be above 40°. and 41°C. Death ensued, after a month and four days (34 days) of disease; the animal was then extremely emaciated.

This was a pure case of *peste dos polmões*, chronic form, toxic modality.

Another observation that followed this one was that of calf n°. 59. This animal was inoculated subcutaneously with a filtered (BERKEFELD filters) emulsion in saline solution of triturated infected ticks *(Boophilus microplus)*. So as to make the description more clear a temperature chart of normal ox n°. 32 is given side by side with that of the infected animal.

After a normal incubation period he showed besides local swelling a very accentuated pyrexia (about 42°C.).

Twenty days later some small, typical *polmões* made their appearance (cf. photograph. n°. 6). This was another step forward. The animal survived.

Calves n°. 10 and 11 are samples of severe cases of the chronic form, cutaneous modality, in the disease obtained by experimental inoculation of filtered blood and pus from animals with the natural infection.

These experiments were carried out on animals belonging to private owners on grounds distant from the laboratory (and which were referred to above) and were consequently unexposed to contamination.

Photographs n°. 7, 8 and 9 speak for themselves so that no additional explanation is necessary.

One of these animals was used for experiments with serum prepared against bacilli of the VRYBURG type. Both of them died within a short while.

From the typical lesions *(polmões)* no bacillus of the VRYBURG type was isolated.

Abundant inoculations in almost all laboratory media were negative for those bacilli.

In one case the *polmões* remained until death, in the other they disappeared shortly after ulceration had taken place.

Inoculation of filtered material was also negative in some cases chiefly when CHAMBERLAND filters were used. But it would be expecting very much to hope to obtain 100 % positive results in a subject so fraught with difficulties.

As is generally done by workers on this subject I would explain these negative results by the adsorbing power of certain filters and the differences of the di'utions of the li:quid filtered.

The cases that remain are so demonstrative in their mere description, so conclusive in their results that they dispense any comment.

Another no less efficient process was undertaken to exclude visible micro-organisms. As will be seen further on, the pus is one of the most constant reservoirs of virus. Once its virulence had been ascertained by previous inoculations a small amount of it was selected and immediately spread out in sterilised PETRI dishes.

The pus was spread in thin layers at the bottom of the dishes. These were taken to the incubator at 37°C.. The material was made to dry up completely (48 hours were usually sufficient).

This material was then reduced to fine powder in a previously sterilised mortar. The powder was then kept at ordinary laboratory temperature in a sterilised test-tube.

From time to time the powder was sown on various culture media so as to ascertain whether it was sterile as to visible micro-organisms.

About 17 days after its preparation the powder left both aerobic and anaerobic culture media sterile. I was now about to ascertain whether the filterable virus was present and furthermore its resistance to drying.

It is well known that if, on the one hand, the virus of vaccine and foot-and-

mouth disease are sensitive to being dried, that of contagious epithelioma of fowls will resist during a long time.

About 2 grams of the powder were diluted in about 20 c. c. of sterilised saline solution and the following animals were inoculated:

a) 1 calf (cf. chart n. 55), 5 c. c. subcutaneously.

b) (nº. 602) 1 rabbit, 2 c. c. subcutaneously.

c) (nº. 603) 1 rabbit, 5 c. c. intraperitoneally.

With the suspension the following culture media were inoculated:

1 tube of broth.
1 tube of coagulated serum-broth.
2 tubes of glycerin-agar.
1 tube of anaerobic agar.

The two rabbits did not react. The culture media remained sterile in the incubator at 37ºC.. The same cannot be said for calf nº. 55a.

The chart of this animal is worthy of attention.

It shows that the pyrexia is not dependant on killed bacterial bodies or on toxins that might be contained in the very small amount of emulsion inoculated. Between the inoculation and the febrile reaction there was an incubation of 48 hours. It would not be altogether misplaced to consider the incubation term of 5 days in this case since only after this did calf show the high temperature of 41º.2C.. This elevation, of temperature lasted 5 days after which, as is usual in the disease, there was a lowering of temperature (the temperature fell to 38º.7C.). with the subsequent oscillations. It would not, I think, be necessary to summon this incubation term (which does not always exclude toxin action) to explain an action of toxins, for these substances would hardly resist of the conditions of light, air and temperature for so long.

CLINICAL FEATURES.

It is hardly necessary to repeat here what everyone is aware of, that is, that clinical divisions do not aspire only to bring together, at a certain moment, known aspects of a certain disease.

It is true that there are cases in which clinical divisions and subdivisions are mere subtleties without any further merit. In others, however, the knowledge of the clinical forms is indispensable and even imperious both as regards treatment and prevention of the disease.

This is amply demonstrated in medicine by diphtheria and plague.

And this was just the admirable rôle of TROUSSEAU and LAENNEC in medical clinics. From the maze of symptoms known they built up autonomic clinical complexes in which the symptoms were placed harmonically and logically and which only awaited the discovery of the etiological agent, left to PASTEUR and his successors.

It has been seen that the work of UHLENHUTH and his co-workers in swine-plague (to limit ourselves to Veterinary Science) gave a rational interpretation to the clinical forms of the disease thus making an accurate prevention and treatment very much easier.

And I am of the belief that in no disease more than in *peste dos polmões* does efficient prevention and treatment depend on a thorough knowledge of the clinical features of the disease.

The clinical features which will be shown here may be modified with additional experience, but, as they stand, they are the result of 3 years of observation and experimenting.

What induced me to undertake the study of the clinical forms of the disease was what I saw in the last epizootic which overran the countryside of the State of Minas Geraes. The variety of the clinical aspects obtained through the

incomplete and generally inaccurate statements of the farmers might have led to suppose that a legion of diseases was at work.

The disease appears under two perfectly distinct clinical forms :

a) The acute form.

b) Chronic forms.

Of course, there are transition and sub-acute forms as it is possible to prove experimentally.

The acute forms are almost always pure.

The chronic forms make up two distinct groups;

d) light (benignant).

e) severe.

Each of these groups may be pure or associated (combined).

Experimental results show the reason of this sub-division. There are cases in which after the inoculation of virulent material, filtered or otherwise, nothing is to be seen except a rise of temperature or loss of weight.

These are the pure light forms. In others the inoculation of virulent material produces one or two swellings *(polmões)*, which soon disappear. There may or may not be fever.

These are the associated light forms.

The same may be said for the severe forms

The associated severe forms may be subdivided into

f) Cutaneous.

g) Intestinal.

h) Toxic.

and finally i) Anomalous forms.

The first is the *peste dos polmões* proper.

The second is known under various names according to the place «Curso», «Curso preto (Black diarrhœa)», «Pneumo-enteritis», «Calves' Diarrhœa.« This term justifies itself. The intestinal modality attacks calves chiefly.

This does not mean that all «cursos» (discharges) are manifestations of *peste dos polmões*. But there is no doubt that diarrhœa, when it is not the only one, is one of the most frequent symptoms of the disease.

The toxic modality is one of the most interesting of the disease. It has been confounded with bovine tuberculosis itself.

In many places it is know as *peste de seccar*» (drought-plague).

Let it be stated once for all that the disease is not in any of its forms (and this may be seen in the photographs printed) merely an affection of calves as might be supposed from the erroneous transcription of my work in some British periodicals. It affects cattle as a whole and less frequently goats (1). The supposition that it is a disease exclusively of calves was modified by me.

a) *Acute* form.

In the epizootic of 1919 the cattle-raisers complained that not only with the *polmões* did the cattle die. Sudden deaths within 24 or 48 hours were frequent. Except for slight sadness or refusal to eat nothing could be noticed on the animal. In January of 1919 this aspect of the disease could be experimentally ascertained. A calf (5b) that I had inoculated with pus from another calf with the chronic disease died within 48 hours with lesions of septicæmia and without *polmões*.

It is not only the chronic, cutaneous form that can be used as a starting point for the acute form. Starting out from a toxic form this virulence may also be obtained (cf. calf nº. 67). They may be explained on the ground of individual resistance (34, 35 and 36) and this would explain the cases of sudden death seen side by side with cases of *polmões* as for instance in the epizootic of 1907.

(1) and even deer.

These cases, although appearing in the midst of those of *polmões,* were variously attributed to snake-bite, noxious plants and so forth by the farmers. This explains also how among calves, which harbour the disease enzootically, apparently healthy animals may succumb without any evident cause. The result is that the rustic mind unable to explain these facts looks about for all kinds of abstrase means of curing the unknown disease which destroys his herds.

The incubation term of the acute form is very short as experiments will show. A few hours after the infectious inoculation the temperature shows an appreciable oscillation. And it is this fact that prevents premonitory symptoms from being shown in the acute form of the disease.

After a rise of one or two degrees there is a steep fall after which death ensues.

There is lack of appetite and sadness.

Whatever the origin of the virus, no *polmões* are seen in the acute form.

Once the disease has broken out there may diarrhœa of varied aspect.

The action of the virus appears very violent. The organism is practically fulminated.

The temperature except for a premonitory rise has a tendency to go down rather than up. These oscillations with a lowering of 1, 2, 3, and almost 4 degrees are seen in the acute form (ox n. 62). They are seen in chronic forms shortly before death. The acute form lasts from 48 to 72 hours (experimentally ascertained) counting from the moment of inoculation. Between these extremely rapid forms, due to the virulence of the infectious material or to undetermined individual conditions, and the chronic forms proper, there are other intermediate and subacute forms with symptoms similar to those of the acute and lasting 6 or 7 days (observations of oxen 16 a and2a).

b) Chronic Forms.

d) Light (benignant).

These are real abortive forms of the disease. The incubation period of the chronic forms, benignant or otherwise is almost as short as that of the acute forms.

It varies from 21 to 72 hours. Here as there temperature has been taken for reference. The observation of temperature carefully and rigorously done is a splendid means of research. I already knew it in human medicine. In veterinary it is found with the same drawbacks but also with the same unap proachable advantages. When all objective symptoms fail, the temperature already expresses the invasion of an organism by a virus.

The light or abortive cases of the disease may be pure, without association, and in this case, there is only pyrexia which soon disappears with or without a slight diarrhœa.

Amongst these cases some resulted from the inoculation of material filtered through BERKEFELD filters. On the other hand, the inoculation of virulent pus, as it is found or diluted, produces in the next days an attenuated and spontaneously curable disease (calf n. 13b). The appearance of *polmões* does not necessarily take place.

In the associated (compound) light forms cutaneous, intestinal and other symptoms are more marked. Filtered material from ticks produced one of these cases in which the fever was already considerable, cutaneous swellings *(polmões)* were typical and diarrhœa and emaciation present. But shortly afterwards all symptoms disappeared without leaving traces. In the fields cattle with a fairly good appearance is to be seen, showing one or more *polmões* and representing this form of disease. The

mainstay of the explanation of these facts is to be found in the general biological facts of infectious diseases: entrance of a slight amount of virus, its slight resistivity, strong individual resistance of the animals.

These apparently healthy animals, living among those really unaffected, become the starting point for the yearly tide os epizootics which spreads over the countryside.

e) Severe chronic forms.

In these also pure and associated (compound) cases are to be seen.

The latter are the more common. A rare case, like that of calf n. 53 is an instance of the pure cases.

The study of these forms may be begun with the cutaneous modality.

f) Cutaneous Modality.

This is without the slightest doubt a modality of the disease with bacterial association.

The affected animals are at first seen to be sad, especially if they are young. They are seen to retire from the herd and to refuse to eat or to eat very little, remaining isolated and downcast.

Shortly afterwards the body covers itself with very small and hard protrusioons, which, once opened, show the internal structure of *polmões* (see further on). These nodules are termed CAROÇOS, or PIPOCAS by the rustic.

These subcutaneous foci of suppuration have a continous development and attain very large sizes. This evolution goes hand in hand with the weakening of the animal, without or without diarrhœa, leading up to cachexia and death.

This is the most common and most convenient form for observation. It was this form that gave the title to this paper.

The length of time this modality lasts was calculated from the mean term of large number of cases studied.

It is of 36 days. There are cases of 16, others of 60, and rare ones of 90 days. The latter was certainly not the longest registered in our observation, the most considerable period being that of a compound form which evolved in 214 days. The cutaneous modality is the only one that can be assimilated with the one described by VRYBURG at Deli or the one studied by SPITZ and LIGNIERES in the Argentine. VRYBURG's disease which is the most similar has nevertheless a few differences.

There the disease is apyretic: it involves the lymph-nodes regularly and locates itself in the blood-vessels. The pus is devoid of odour. Mortality is of 10 %. Recovery a rule. It is true that this might be attributed to climate and race. I believe that perhaps the truth lies with those who believe in the identity of VRYBURG's disease and our *peste dos polmões*.

In the cutaneous modality the *polmões* or swellings or nodules dominate the whole symptom-complex (v. Photographs 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9). There are cases in an epizootic in which this is the dominant form. In the great panzootic of 1919—1920, outside the acute cases, I only saw this form (Photographs 20—22). These swellings appear almost always at the same time on the surface of the body. The general appearance of affected animals is characteristic. In advanced cases (cf. Photographs 1 and 10), the animals become extremely emaciated. This disturbance of metabolism is one of the most constant symptoms of the disease whatever the chronic form happens to be. The fur, which is thin over the surface of the swelling, appears ruffled, in tufts, on the back.

The general condition of the animals is one of extreme weakness. They eat very little. Diarrhœa, cough and stertorous breathing may be present. At times, when all other symptoms fail or

are obscure, coughing may be the only sign that betrays the disease to the cattle raisers. It is caused by the frequent pulmonary lesions shown up by pathology; pneumonia, abscesses, bronchitis and so forth.

The stertorous breathing is due to the whirling motion of the inspired and expired air as it goes through bronchi trachea and laden with catarrh or pus from alveolar or bronchic lesions. It is very often a sign of what the rustics call «*polmão interno*». Already three years before I had seen this severe manifestation of the disease in the district of Carmo da Matta (Station on the Western Railway of Minas Geraes), at the farm of Coronel OLYNTHO DINIZ. But I did not study the case extensively as I took it to be of concomittant tuberculosis. Only later after extensive and careful observation did I learn how rarely this really happens. The internal *polmões* are abscesses within the pulmonary parenchyme with all the characters of the cutaneous *polmões*. Among cases observed one which has much to show should be quotel, from the form of the eminent Dr. JOÃO TEIXEIRA SOARES (Fazenda de St. Alda Station of Teixeira Soares—Entre Rios – Porto Novo Branch. State of Minas Geraes).

This calf which had some zebu blood, was suffering from the chronic form, cutaneous modality, simulating an exclusive affection of the lungs. The owner of the farm said that it was one of the frequent cases of «pneumo-enteritis» which he was in the habit of treating without much hope of curing.

This was one of those cases that might be taken for anything rather than *peste dos polmões*. Careful examination of it showed me some minute cutaneos *polmões* hidden under the long fur of the back and of the limbs.

The stertorous breathing, the only symptom that had called the attention of the owner, expressed the presence of severe and extensive lesions of the pulmonary parenchyma as necropsy later proved. The animal was slightly emaciated.

In the cutaneous modality of *peste dos polmões*, the animal lies down constantly and often not to rise again. When standing up, he appears with his back slightly arched as if afraid to produce pain by the distension of the muscles. The animals walk with slow steps and lowered head the while they err about the pasture without eating. The number of phlegmons to be counted on the surface may reach 64 (calf n. 56). I have counted 63 on an ox from Curralinho (Central Railway of Brazil). The size of these cutaneous tumours varies from the size of a walnut to that of a shaddock. In this case the amount of pus collected may attain about 3 litres (cf. Photograph n. 10 of ox seen at Lassance). An interesting fact is that the abscesses are found encysted in a resistant membrane.

There are cases, however, in which the pus overcomes this barrier and undermines great regions of tissue. These are the exception.

Exceptional are also the so-called internal *polmões* which have just been referred to. The pus of these has all the characters of that of the cutaneous *polmões*. In one of them I found about 200 grms. of purulent material. It is astonishing that with so many and so extensive purulent foci the animals should not show internal collection of pus more often. In no other organ of the diseased animals were voluminous deposits of pus found. Perhaps more extensive observation may yet prove that this is not really true.

The deep aponevroses are in almost all cases respected.

The muscular tissue is rarely invaded by pus. When this happens there is a thick membranous layer round

the pus. In the thickness of the muscle lodges are formed to contain the pus. The pus from the *polmões* is thick, light yellow, reddish or salmon-coloured or liquid with this last colour. Only once were the contests of the *polmões* seen to be really hæmorrhagic (ox from the Station of Curralinho). The pus is always fetid, sometimes intolerably so. In the big purulent collections (calf. n. 22, Photograph n. 12) the pus undermines enourmous regions of the skin.

The process begun in the right scapular region corrodes the whole neighbouring distinct and at times comes and forms a protrusion at elbow or fetlock of the same side. In these cases a great zone of skin is completely loosened from the underlying tissues. These abscesses, even the ones of great volume, may remain closed until death. They may also ulcerate and void a fetid purulent mass. There remain afterwards great grooved cavities in the skin. In this case one of the most common complications is the so-called «bicheira» or myiasis. Severe hæmorrhages were never observed, as was to be foreseen, since the pus frays its way under the skin, respecting the deep-seated aponevrose. Only in one calf, n. 27, inoculated with triturated ticks *(Boophilus microplus* and *Amblyomma cajennense)* the pus had overcome these aponevroses and and made hernia into the abdominal cavity, where the peritoneum had surrounded it with strong protective adherences thus avoiding a generalised peritonitis.

When small these *polmões* are hard. When aspirated into pipets drawn out over the blow-pipe it will hardly come out even when aspirated with force. And then it is only possible to obtain a thick, fetid, creamy pus with the aid of pipets with a large calibre.

With the development of the abscess palpation reveals fluctuation, heat and, not unoften, the shock of transmitted wave of fluid. This is even a noteworthy symptom in some cases, In experimental inoculation I noticed that in many cases inoculations of pus produced this symptom from the outset. Percussion elicits a peculiar sound, palpation an unmistakable sensation. It is as if one were to shake a certain quantity of liquid in a receptacle with soft walls. The calf shown in photograph 23 is an instance of these cases. These phlegmonous cutaneous manifestations—*polmões*—led us to believe in the affinity of this disease of our cattle with the disease described by SORILLON. After reading the careful work of LIGNIERES and SPITZ in the Argentine on actinobacillosis I also found points of contact with this disease. NOCARD, who has made such a detailed study of SORILLON's disease gives a demonstrative outline of it in his already quoted paper.

The *polmões* are not always evident as protrusions over the surface of the skin. There are cases in which it is necessary to search for them with case over the body of the animal. And it must be pointed out that this does not only happen with those of small volume. There are *polmões* of about 500 grms. that by their special location are imperceptible or hardly to be perceived. And this is why so many cases of diarrhœa and stertorous breathing («Curso preto», «Curso sanguinolento», «Curso simples», «Ronqueira« etc.) are nothing else than good cases of *peste dos polmões*. In the regions where the skin is hard and distended by bony surfaces, the pus, compressed by its surroundings, gains in width what it loses in height; it becomes diffuse and has unclear limits unlike the usual *polmões*. Instead of a sharply cut abscess we have vast regions of skin undermined by pus.

The only barrier which is respected in this case also is that of the deep aponevroses.

When the skin is pliable over the bony tissue the pus is apparent even when there is little of it.

A casual look will perceive the protrusions on the back of the cattle.

When the skin covers loose tissue, this tissue has to bear the brunt of the purulent mass. In these cases only great collections of pus will call attention.

The contrary is what happens when the skin covers strongly distended muscular masses.

The animals left in the open, besides the myiasis («bicheira») to which ulcerated *polmões* are subject, may have secondary infection of bacterial origin in the cutaneous foci of pus and more or less numerous samples of the so-called BERNES (Larvæ of *Dermatobia hominis*). The animals then have a pitiable appearance.

Undermined by pus, eaten up by maggots and bernes, emaciated, with the bones showing through the stretched skin which is covered with nodules, ulcerated or otherwise, round which fly clouds of flies, the unfortunate animal errs slowly and often uncertainely through the fields until consumed by the thirst of its high fever it finds its death in the bogs round the banks of the river or in the marshy ground of certain meadows, searching for water to mitigate its thirst.

This form of death is not rare. Many cattle-raisers called our attention to the fact. Each interpreted it in his own way. It seems to me that it is just the state of weakness in which the animal finds itself that prevents it from getting away in time from the marshy ground.

There is another complication to be noted. It is the one seen in the photograph of calf nº. 250. It is frequently seen in the disease and its effects are not to be taken lightly.

The complication appears as a tumour at the height of joints, principally in the fore-legs. This swelling is of varied origin. Either it is local and the result of a *polmão* located in the periarticular tissue; or it is the last stage in the development of a distant *polmão*, located higher up and which undermined great extensions of tissue and came naturally towards the ones placed lower down, collecting in those where the skin is tightened and loosened round the epiphyses. There are also cases in which the swelling is only due to a localised, slightly hæmorrhagic œdema, surrounding the articulations.

Sometimes the swelling has the appearance of a *polmão:* a rounded protrusion with a more prominent and softer part, with fluctuation and neat outline. At other times it is a diffuse swelling with the appearance of a simple œdema, but containing, in reality, pus. These forms are confounded with those referred to above of real œdema of a hæmorrhagic nature.

This complication is of a certain importance because it hinders the animal in walking, obliging it to remain lying down and, and not unoften, to die of hunger or thirst. Of this many farmers complained.

This aspect of the disease was often seen.

Another fact worthy of mention, although it cannot be indicated as a real complication, is the so-called goitre (PAPO) of cattle.

The goitre was noted by the farmers and I was able to obtain it experimentally.

The location of the lesion led the farmers to suppose that they had before them a lesion similar to that of the thyroid gland of man and certain animals. It is found below the jaw and may spread down to the root of the neck. Calf nº. 252 was inoculated with the triturated material of the viscera of a diseased animal. Many days later there apperared a swelling under the

jaw with the appearance of a 'goitre. Of course it was not really a lesion of the thyroid. The animal had the typical disease.

I had a very demonstrative case as regards the real interpretatien of the origin of the lesion.

The «goitre» of this calf appeared and disappeared within a few hours. The disappearance was complete in less than 24 hours and no vestiges were left.

Could these swellings be of the same nature as the tropho-neurotic ones of man? Or might they be simply œdemas of renal origin?

From what had been found out about the pathology of the disease this seemed the more likely explanation.

The «goitre», as I saw it at necropsies is made up of a gelatinous œdema which ought to form itself in a similar manner to those seen in the acute or even in chronic cases of the disease.

Upon palpation, the sensation is as if of a semi-fluid paste. Upon section, a lemon-yellow fluid runs out.

A common accident is abortion of pregnant cows. Not unoften both cow and calf die. When the calf survives it gives the impression that it has inherited the virus such is the rapidity with which the disease appears.

Right in the first days after birth *polmões* are seen and besides this there is a decided backwardness. The temperature of animals with this clinical form of the disease is expressive (V. charts ns. 65, 66, 58, 8, 200, 19 and D). The charts 20 and 26 of normal oxen are alse given for reference.

The temperature of healthy or diseased cattle was taken during a long time.

In the cutaneous modality, there is almost always fever, and, often, high fever. The cases of lowering of temperature are very rare (chart nº. 32).

The normal temperature of cattle varies between 39 and 40ºC., in the state of Minas Geraes. The temperature of animals with the chronic form may go up to 42ºC. (see charts nº. 59 and 22) and remain at this height for many days.

But it is not the height of the temperature that is its chief characteristic. within limits, it is of a type similar to that of suppurative fevers in man. But the oscillations are in some cases still more marked. From the morning to the evening 2, 3, and 4 degrees' difference is seen (Cf. graphic of ox D).

We had some observations of typical chronic form, cutaneous modality (V. charts ns. 20 and 21)., in which the temperature hardly reached 40ºC., or, in other words, remained within limits normal for cattle. Besides this rare type there is another equally unusual. Chart n. 22 shows a different aspect, quite the contrary of the one just seen.

This animal had the severe chronic form, cutaneous modality, experimentally obtained by inoculations of a small quantity of virulent pus under the skin. The temperature remained unremittingly above 40ºC. during nearly a month. It went over 42ºC. (42º1C.), during the afternoon of June 26th and remained between 41º and 42ºC. during 16 days.

In the severe chronic forms, as in the acute, it must be pointed out that, a few days before death, thre is marked lowering of the temperature of the animal.

The temperature is lowered down to 37 or 36º and a few tenths (cf. charts ns. 70, 20, 9, 66 and 56). In this modality of *peste dos polmões* in which the temperature remains within limits I consider normal, what there is of interest to point out is the sudden and marked decreases which give interesting oscillations. These are not seen in normal cattle. But this must not be thought to be a decisive factor in diagnosis. Other diseases of cattle may show the same curve of temperature. In this modality

there is are also lymph-node involvement to be seen, even in the subcutaneous rete. In many photographs the circumflex-iliac and lateral iliac nodes, which are the commonest are to be seen considerably enlarged.

Special studies were made in this particuar sense. These lesions are not due to some specific bacterial agent (38). The lymph-node lesions are the sequencé of lesions affecting other organs.

It would appear from the work of VRYBURG, that lymph-node involvement is constant in the disease at Deli. MARQUES LISBOA and EZEQUIEL DIAS pointed out this fact in our country. From the lymph-nodes I isolated ordinary bacteria of suppurative processes, as well as those already described.

Another manifestation seen in cattle with this modality, and which may appear in the other ones, is that of the mouth.

These are lesions of the epithelium, which is broken in a not very characteristic way (these lesions must not be confounded with foot-and-mouth disease); salivation is abundant. The last stage of this disease is usually accompanied by diarrhœa (which is sometimes black—curso preto—ox nº. 26 inoculated with triturated ticks). Some cases and even some foci of the disease show this symptom from the first.

These cases are renal mixed forms, already pointed out in this country, which I have often, seen, both naturally and experimentally.

I made use of the opportunity to make a more careful clinical examination and decided to investigate the hæmatology of the cases in hand (39, 40 and 41). I will give here a general table of the curve of hæmo-leucocytes in *peste dos polmões* (in various forms), specifying the modality of the disease. I must mention it was never possible, in any clinical modality of the disease, to find in fresh or in stained blook, any bacteria, protozoa or fungi. The technic used for the general counting was that of the REICHERT (Vienna) hæmatimeter with the liquids of THOMA and HAYEM.

For specific counting: the blood was drwn out in a thin layer on fresh slides, dried quickly in the air and stained by MAY—GRÜNWALD—GIEMSA. I chose the cases which appeared most typical and were under good conditions of observation. I tried to use the same technich in all cases.

What was said about the absence of bacteria in preparations of blood might at first sight appear to be in contradition with what had been said about cultures from the blood. But it need only be borne in mind that, as in the case of the typhoid bacillus, which is not looked for in preparations but by plentiful inoculation of bile and broth media, the bacillus that escapes in a drop of blood may be easily revealed by 5 or 10 c. c.

Enumeration of Blood-Corpuscles

Normal Ox 42.

Number of Red Blood-corpuscles per cubic millimetre	Average Number of Leucocytes per cubic millimetre
6.000.000 (mean number of 6 writers)	8.500

Differential Countling

Normal Ox

Percentage:

Large Mononuclear	Eosinophiles	Basophiles	Neutrophiles	Transition Forms
1.5 o/o	1 to 2 o/o	Up to 0.5 o/o	60—70 o/o	1.5 o/o

Large Lymphocytes — Small Lymphocytes

25—35 o/o

These are the data refering to normal cattle, given for comparison. I will next give those obtained on cattle with Peste dos POLMÕES.

First the enumeration of cells is indicated and then the differential counts.

Enumeration of Blood-Corpuscles

Number acc. to Order	Number of Red Blood-Corpuscles per cubic millimetre	Number of Leucocytes per cubic millimetre	Number or Name of Animal	Form of the Disease
N. 1	1.344.000.....	40.200.....	N. 56.....	Servere chronic cutaneous Form, Natural. Died.
N. 2	3.232.000.....	9.390.....	N. 8.....	Severe, chronic, cutaneous form, experimental. Died.
N. 3	3.576.000.....	7.500.....	N. 29.....	Very light, chronic, cutaneous form, experimental. Discharged,
N. 4	4.369.000.....	7.900.....	N. 30.....	Severe chronic, toxic form, experimental. Died.
N. 5	7.816.000.....	18.600.....	An. Elias n. 1	Severe, chronic, cutaneous form, natural.
N. 6	5.264.000.....	18.600.....	An. Elias n. 2	Severe, chronic, cutaneous form, natural.
N. 7	9.810.000.....	14.000.....	N. 58.....	Light, chronic, toxic form. Experimental. Inoculated with triturated ticks.
N. 8	5.412.00.....	11.000.....	S. I.	Very light chronic form. Discharged.
N. 9	4.784.000.....	3.200.....	D	Severe, chronic, cutaneous form. Died.
N. 10	1.472.000.....	2.400.....	F. Sá 1	Severe chronic, cutaneous form, Natural. Died.
N. 11	3.392.000.....	9.200.....	F. Sá 2	Severe chronic, cutaneous form. Died.
N. 12	4.328.000.....	12.400.....	N. 23.....	Chronic, cutaneous form.
N. 13	3.808.000.....	5.700.....	N. 2 X Piripiry	Severe, chronic, cutaneous form. Natural. Died.
N. 14	4.000.000.....	7.400.....	1 X. Piripiry.	Severe, chronic, cutaneous form, natural. Died.
N. 15	6.300.000.....	7.000.....	N. 63.....	Severe, chronic, toxic form. Natural. Died.
N. 16	2.758.000.....	15.000.....	N. 65.....	Severe, chronic, toxic form. Natural. Died.
N. 17	2.096.000.....	10.100.....	U. 1.....	Light, chronic, cutaneous form, natural.

Diseased Cattle. Differential Counting of Leucocytes. Percentages.

Number acc. to Order	Number or Name of An.	Form of the Disease	Large Mononuclear	Eosinophiles	Basophiles	Neutrophiles	Small Lymphocytes	Large Lymphocytes.	Transitiona Forms
N. 1	56	Severe, chronic, cutaneous Form, natural. Died.	8. o/o	1. o/o	0. o/o	68. o/o	14. o/o	5. o/o	4. o/o
N. 2	8	Severe, chronic, cutaneous Form, experimental. Died.	6. o/o	8. o/o	1. o/o	18. o/o	31. o/o	23. o/o	3. o/o
N. 3	29	Light, chronic form, experimental. Discharged.	9. o/o	4. o/o	1. o/o	36. o/o	19. o/o	34. o/o	———
N. 4	M. 1	Light, chronic, cutaneous form, natural.	12. o/o	17. o/o	1. o/o	27. o/o	12. o/o	31. o/o	———
N. 5	F. Sá N. 1	Severe, chronic, cutaneous form, natural. Died.	7. o/o	2. o/o	1. o/o	27. o/o	21. o/o	38. o/o	4. o/o
N. 6	F. Sá N. 2	Severe, chronic, cutaneous form, natural. Died.	5. o/o	0. o/o	2. o/o	56. o/o	26. o/o	9. o/o	2. o/o
N. 7	N. 23	Chronic, cutaneous Form.	17. o/o	5. o/o	1. o/o	16. o/o	23. o/o	34. o/o	4. o/o
N. 8	1. X. Piripiry	Severe, chronic, cutaneous form, natural.	6. o/o	2. o/o	0. o/o	58. o/o	14. o/o	19. o/o	1. o/o
N. 9	2. X. Piripiry	Severe, chronic, cutaneous form, natural.	4. o/o	6. o/o.	0 o/o	56. 8. o/o	13. o/o	20. o/o	1. o/o

Diseased Cattle. Differential Counting of Leucocytes. Percentages.

Number acc. to Order	Number or Name of An.	Form of the Disease	Large Mononuclear	Eosinophiles	Basophiles	Neutrophiles	Small Lymphocytes	Large Lymphocytes.	Transitiona Forms
N. 10	N. 63	Severe, chronic, toxic Form, natural.	3.5 o/o	1.5 o/o	1.5 o/o	45.5 o/o	7.5 o/o	36 o/o	4.5 o/o
N. 11	N. 65	Severe, chronic, toxic Form, natural.	4. o/o	2. o/o	1. o/o	61. o/o	5. o/o	21. o/o	6. o/o
N. 12	D.	Severe, chronic, cutaneous Form, natural.	0. o/o	0. o/o	9. o/o	41. o/o	15. o/o	26. o/o	9. o/o
N. 13	A. E. n. 1	Severe, chronic, cutaneous Form, natural.	2. o o	10. o/o	0. o/o	46. o/o	18. o/o	21. o/o	3. o/o
N. 14	A. E. n. 2	Severe, chronic cutaneous Form, natural,	6. o/o	0. o/o	1. o/o	47. o/o	11. o/o	30. o/o	5. o/o
N. 15	N. 58	Light, chronic, toxic Form, experimental. Inoculated with pus filtrated through B. 17 filter.	40. o/o	0. o/o	0. o o	30. o/o	6. o/o	20. o/o	4. o/o

Necropsies with inoculation of culture-media to reveal Bacilli of the VRYBURG type and other bacteria from the viscera of animals.

Number acc. to Order	Name	Disease	Necropsy	Results for bacilli of VRYBURG type.	Results for Diplococcus polmonis.	Results for other organisms.
N. 1	Ox n. 2 F. Sá.	Natural Disease. Cutaneous Modality	Immediate.	Negative.	Negative.	Negative.
N. 2	Ox n. 1 F. Sá.	As in n. 1.	«	«	«	
N. 3	Calf n. 19	«	«	«	«	«
N. 4	Calf from Lassance	«	«	«	«	«
N. 5	Calf n. 24	Experimental, chronic cutaneous.	«	«	«	«
N. 6	Calf n. 15	Natural Disease. Chronic. Cutaneous Modality.	«	«	«	«
N. 7	Calf n. 16	Experimental. Disease Chronic.	«	«	»	«
N. 8	Ox from Curralinho.	Natural Disease Chronic Form POLMÕES.	«	«	«	
N. 9	Calf n. 13	«	«	«	«	«
N. 10	Calf n. 3	Experimental Disease.	Immediate.	Negative.	Negative.	Negative.

Necropsies with inoculation of culture-media to reveal Bacilli of the VRYBURG type and other bacteria from the viscera of animals.

Number acc. to Order	Name	Disease	Necropsy	Results for bacilli of VRYBURG type.	Results for Diplococcus polmonis.	Results for other organisms.
N. 11	Calf n. 5b	Experimental. ACUTE.	«	«	«	«
N. 12	Calf n. 4	Experimental. ACUTE.	«	«	«	«
N. 13	Calf n. 27	Experimental. Chronic.	«	«	Diplococcus polmonis b isolated from liver.	«
N. 14	Calf n. 66	Natural Disease. Chronic POLMÕES.	«	«	Not isolated.	Alt the culture tubes remained sterile, except some from the *Liver,* from which commonplace cocci were isolated (Staphylococcus and Streptococcus) From the *lymph-glands*, during life, I isolated a *Pasteurella*, besides the cocci.
N. 15	Calf n. 56	Natural Disease. Chronic.	«	«	«	In most of the tubes, contaminations by fungi and bacteria from the air.
N. 16	Calf A. E.	Natural. Chronic.	«	«	Negative.	Negative.

Necropsies with inoculation of culture-media to reveal Bacilli of the VRYBURG type and other bacteria from the viscera of animals.

Number acc. to Order	Name	Disease	Necropsy	Results for bacilli of VRYBURG type.	Results for Diplococcus polmonis.	Results for other organisms.
N. 17	Ox n. 65	Natural. Chronic. Toxic.	Immediate	Negative.	Negative.	From the liver a small, motile, GRAM-negative bacillus was isolated (larger than VRYBURG's) which fermented glucose and lactose.
N. 18	Ox n. 63	Natural. Chronic. Toxic.	«	«	«	From the triturated viscera (Heart, Liver, Kidneys) were isolated: 1 long, GRAM-positive bacillus with sharply cut ends, very motile; 1 bacillus of *Pasteurella* type.
N. 19	Calf n. 400 Teixeira Soares.	Natural. Chronic. Cutaneous	«	«	«	From the spleen was isolated: A thick, GRAM-negative bacillus. From the liver: A GRAM-positive bacillus.
N. 20	Calf n. 68	Experimental Chronic compound (intestine and POLMÕES).	«	«	«	Besides various cocci (Staphylococcus and Streptococcus) isolated from the liver a big GRAM-negative cocco-bacillus.

From the enumerations made in the blood of animals with *peste dos polmões*, it may be seen that there is always anæmia (chronic forms) sometimes with a great reduction in red blood-corpuscles.—The mean of the figures given by 6 writers allows normal cattle 6 million blood-corpuscles per cubic millimetre. Some indicate 5, others 7 million red-corpuscles per cubic millimetre. In 17 observations taken only in 3 cases did I obtain figures higher than 6 millions of red blood-corpuscles in bullocks with *peste dos polmões*. The minimum noted was 1.344.000. This was a case of considerable dearth of red corpuscles.—But even without reaching such extremes the constant number of red corpuscles maintained itself below the normal in the diseased bullocks. The number of leucocytes per cubic millimetre varied considerably. According to MAREK the normal is 7 to 10 thousand. In 7 cases out of 17 there was a departure from this figure, which in one case was remarkable (Observation n. 1). But besides this increase up to 40.000 I have seen reduction to 2.400 per cubic millimetre. In both cases there was a reduction of red blood-corpuscles; both were of the cutaneous modality. In a general way, one can say that the white corpuscles in *peste dos polmões*,—when they are not normal in number (within the limits indicated above),—are not unoften decidedly increased in number. The examination of the different kinds of leucocytes found revealed also some important facts. Among these MONONUCLEOSIS takes a prominent place, being seen in nearly all cases. Mononuclears may be present as 17 % of the total number of leucocytes, when normally they should only make up 1,5 % of this total. In other cases, there may be at times marked EOSINOPHILIA (Obs. n. 4—19 %). Might this increase in numbers of the eosinophiles be due to the cutaneous lesions, or, as is not improbable, to the worms commonly found in the digestive tract of cattle. Basophiles are slightly increased and neutrophiles, in most cases, fewer in number than normally.

There is lymphocytosis, and, in the majority of cases, considerable lymphocytosis. The number of lymphocytes is rather high in almost all cases. Small and large lymphocytes ought to be present as 35 % of the total of leucocytes.

Only in 4 out of 17 cases did this happen. The greatest proportion found was of 59 %: Large lymphocytes dominate. The general appearance of the blood, both macroscopically and microscopically is noteworthy. When blood is drawn from an advanced case of *peste dos polmões*, an anæmic blood is found, as had already been shown for the majority of cases by the enumerations.

One has the impression that the blood is diluted and of delayed coagulation. Hæmoglobin found always very reduced in quantity. Enough cases were not obtained to calculate the average amount in the blood.

Microscopic appearance of fresh or stained blood is important. Examination of fresh preparations except for the number of red blood-corpuscles or size of leucocytes shows nothing special.

This examination was undertaken countless times in the hope of finding something that might explain the aetiology of the disease.

Examination of a film of dried and stained blood discloses more interesting details. Red blood-corpuscles show alterations as regards size, colour and shape. Corpuscles nucleated, with stippling are to be seen (a very fine pigment, reddish in the ROMANOWSKY stain and its modifications).

Increased size is seen clearly and often in good preparations. To use abstruse terms, very much in favour with those who study this subject, ANISO-

CYTOSIS, POIKILOCYTOSIS and HYPERCHROMÆMIA, were present.

The chronic form, cutaneous modality, has already been found in goats also, and, if informations obtained are to be credited, even in deer.

It was just on the Pranch of Montes Claros, at the station Francisco Sá, that I saw for the first time, in the course of the panzootic of 1919, this form in goats. The animal showed symptoms similar to those seen in cattle.

Bacteriologic examinations gave the same results.

Before passing on to the chronic form, intestinal modality, I would like to mention a symptom which seemed strange but was seen 4 times during the long observations I have been making. In the last periods of the cutaneous disease the animals may show real paralysis. This was seen in the case of calf n. 70 that remained prostrate during the 13 days that preceded death.

Later two other calves—n. 40 and 37—from another set of experiments showed very marked paralysis of the hind legs, and with this lesion they died. I had one or two more cases, which being the first were only noticed in passing.—The lengthy term of observation during which the animals remained within the stables, the absence of any other reigning epizootic in the locality, the recognised fact that the cattle came from a place where they had not been interchanged and from which other animals showing nothing unusual in the same space of time had come, the absence of Negri bodies in the nervous system, the negative results of inoculation of this tissue, and the repetition of the fact after a long time in the same modality and period of the disease make one suppose that it might not be wrong to attribute these nervous symptoms to lesions caused by the virus of *peste dos polmões*.

In any case it is the duty of the writer to indicate what was seen and not what he would have liked to see.

g) Intestinal Modality. «Cirrso» «Diarrhœa, «Pneumo enteritis«. Whether natural or experimental this form is a real pneumo enteritis of cattle.

Intestinal symptoms are dominant. In calves this becomes quite noteworthy. Besides diarrhœa there is a rapid emaciation. I had the opportunity to ascertain this experimentally, inoculating virulent material (pus) into healthy animals. There is diarrhœa of a varied appearance, which may also be hæmorrhagic. This form is rarer in adult cattle. The chart of ox n. 39 is of a pure case of the chronic form, intestinal modality. Fever, lack of appetite, emaciation pulmonary lesions, and, above all, diarrhœa are present.

In the associated (combined) cases, pneumonia, a few *polmões* more or less masked are found which are overlooked by the farmers, who then besiege us with demands for a serum or vaccine against the «diarrhœa of calves». In these cases diagnosis is quite easy. But if the modality goes on pure to the end, it becomes very difficult to make a differential diagnosis as againt the other diarrhœas, so common among cattle and specially among calves. Only laboratory examinations can clear up these cases.

h) Toxic Modality—«Mal Triste»—«Peste de Seccar». (Natural and experimental).

This modality is one of the most interesting of the disease.

It is based on the clinical symptoms and on the results of pathological study obtained.

Experiments had given me an inkling of it. Experience and observation in the field have largely corroborated the fact. The great number of experiments planned and undertaken have been the only factor in clearing up this aspect of the disease.

Thus it was seen that a great number of animals inoculated with virulent material did not die with *polmões*, diarrhœa, nor did they die within 48 hours.

There were many case in which cachexia was the only symptom that appeared to be worth noting (Chart of calf n. 53).

And this symptom is so isolated that in many places it became the base for the popular name by which it is known.—«*Peste de Seccar*» the Plague of Drying (1). In the cutaneous modality the cutaneous phlegmons dominate the scene hence the term «*Peste dos Polmões*». Here it is the emaciation that becomes evident, and therefore the name is «*Peste de Seccar*».

The evolution of this modality takes many days. The animal of chart 53 lasted 34 days from the inoculation of virulent material.

However it appears to me that this is the most lengthy form. The average of the cases registered was of 60 days' evolution. One of them lasted 180 days, which was the time we were able to watch the animal.

The toxic modality of *peste dos polmões* begins in the same manner as the cutaneous one. Sadness, lack of appetite and so forth.

What differs is the evolution. Whereas in the former the *polmões* dominate the scene at all times, one or another polmão that chances to appear in the latter (and they need not make their appearance), disappears without leaving a sign of ulceration on the skin. Calves with scars of different appearances (generally attributed to myiasis), drying up day by day, are to be seen quite commonly. But calf, n. 53 did not a show a single polmão, which shows how difficult the differential diagnosis must be in some cases of this modality of the disease.

But this one is not subject to any doubt: it was an experimental case.

In these cases autopsy excludes a tuberculous infection, I might mention that in dozens of autopsies carried out, I only found once, in the cutaneous modality (calf) initial tuberculous foci. Caseification and cavity formation were not yet present.

But it would not be surprising if the diseases were found combined. The most common cases of the toxic modality are those in which the calves present one or another polmão not readily seen, marked sadness (hence the term «*mal triste*»), dejectedness, slight diarrhœa (towards the end there may be intense diarrhœa of a dark colour), fever, loss of appetite and above all an ever increasing emaciation.

Nothing will fatten the animals. An interesting fact is that this modality may, at times, be a sequel to the cutaneous modality of the disease.

The animal will appear with *peste dos polmões* proper at first.

Many months later, after the *polmões* have disappeared leaving residues or not, the emaciation begins. Sometimes when the animals are seen in this stage it difficult to make a retrospective diagnosis.

It is only when the evolution of the disease is followed day by day, as I have done, that it becomes possible to clear up this question.

And yet pure forms of this modality are not exceptional.

The animal with ruffled fur, sleepy, blackened by diarrhœa, with the ribs showing, posts himself in a corner of the fields or stable. There is an extreme state of weakness. It is easily thrown down. I saw many of these cases in the last panzootic of Minas Geraes.

(1) I understand that there are works written, which attribute the so-called "peste secca" (Dry Plague), at any rate in certain localities, to worms found in the lungs.

The temperature of the animals may be very similar to the one occurring in the cutaneous form (charts n. 65, 63 53). Besides the raised temperature, great oscillations are to be observed. The temperature may reach 41°C. and a few tenths.

There are cases in which the daily temperature is always high (n. 65).

Others in which the temperature rises only a few tenths of degree.

In the cutaneous modality of *peste dos polmões* skin-lesions predominate, in the toxic the lesions are more renal in character.

To wind up this already long chapter I may add that the modalities of the severe chronic form may be complicated by a multiple bacterial association or by the varied localisation of the parasitic agent.

These are the MIXED forms. They are not rare either in human or animal pathology.

CLINICAL FEATURES.

ANOMALOUS FORMS.

a) Cutaneous.

Cattle may yet present a single *polmão* of anomalous evolution.

At first, papation gives a sensation of having under one fingers a resistant, fibrous and slightly enlarged node which moves with ease under the skin.

The polmão remains thus during one, two months.

There comes a time when, for some reason or other, the evolution of the phlegmon is hastened, and it is seen to protrude under the skin and to show all the characters that have been described for ordinary *polmões*.

Often the *polmão* of a given ox will remain single. The farmers take it for an ordinary abscess. Incision is the proper treatment. These cases are obtained experimentally. These *polmões* upon being opened in the first phase show all the chief characters of *polmões* in general, and particularly the thick protective capsule.

Calves have an expressive temperature curve and become dicidedly thin.

Inspite of the pus being voided, death may be the outcome of this anomalous form.

The fact is that the single cutaneous lesion may hide a distinct severity of the disease in its aggression on kidneys and lungs.

And this helps to make clear how under the appearence of commonplace abcesses certain animals may be ample reservoirs of the virus of VRYBURG's disease.

The fact that such cases remain unknown to veterinaries or simple to farmers may concur to perpetuate the virus.

b) Articular Form.

In another chapter of this work I have already given photographs and a description of what might be called a «pseudo-articular» form of the disease, on account of the subcutaneous and juxta-articular localisation of the inflammations or edemas:

But here we are going to find a real articular form.

Whether naturally or experimentally infected, the affected animal becomes noticeable in the herd on account of claudication of fore or hind-legs. Attimes only one leg is affected. Not unoften the animal is lame from 3 legs.

In some cases examination of the skin does not show a single *polmão*. In others there are a few typical swellings in full evolution. Only lesions of the joints are evident. All else appears healthy.

At first, the animal feeds well, so that the general state appears fairly good.

At the beginning of the disease walking is still possible. At this time the site

of the lesion is perfectly clear. When the disease is more advanced it might be mistaken for certain nervous lesions. And it was what I supposed when I saw the first case, in view of what I knew of the disease. (Cf. Paralytic symptoms in the clinical part).

At first the animal still walks. It comes in behind when the whole herd moves. It loses ground when long distances are covered. Pain in the affected joint forces it to lie down every now and then. When one joint is suffering it can hardly lean on the corresponding limb. When many joints are affected the animal is soon unable to walk.

Finally it lets itself down on the road-side, on the banks of a brook or in the open country and there it is left by the owner, «tired of driving the malingering ox»,—to die of hunger and thirst.

In the ranches of the interior of Minas Geraes, during the last panzootic, I was told by owners that the animals, very weak, although fat, would be unable to stand up and would die of hunger and thirst under the burning sun of December and January. These were cases of the cutaneous form, articular variety (chief lesions), as I myself was able to ascertain.

There are cases of lesion of one articulation. In others the lesion would be of say, the 4 metacarpophalangeal articulartion. It would be a purulent poly-arthritis. Experimentally this pure variety is obtained by intravenous inoculation of virulent pus. But these inoculations do not always produce this pure «articular form». In this there is perhaps a special question of germ and environment.

A few—3 or 4 days—after the virulent inoculation the animal begins to show lameness, and in a short while the disease breaks out in the manner shown.

Palpation of the articulation in these cases is extremely painful. There may or may not be a slight enlargement of the articulartion. Sometimes not the slightest sign of swelling is to be seen.

At other times, towards the last periods of the disease, there arises a small cutaneous *polmão,* at one side of the joint, ultimate stage of an osteo-articular purulent collection.

In these cases the pus locates itself at the extremity of the bones (bony lesion), which become necrosed at the articular surfaces.

Necrosis of the bone allows one to see, after some time, a large orifice with irregular sides, inside which bony sequestras are floating around together with pus.

The *polmão,* at first close to the joint, ends by becoming articular.

The pus perforates the epiphysis from one side to the other. With a probe the whole fistulous channel can be followed. At one end there is a fine periosseal pellicle; at the other there may or may not be a juxta-articular *polmão* in communication with the fistule. When the *polmão* breaks down it is the skin itself round the joint stops the way for the pus.

This pus may respect the articular capsule.

There is at times also a serous fluid collecting in the joint affected by inflammatory process.

From the bone'-marrow, from the serous fluid, from the pus running from the necrosis of the bone may be isolated the bacteria commonly found in the pus of *polmões,* including the «Diplococcus b».

As has been seen these are cases of single or multiple, purulent arthritis with perforating osteitis or osteo-mycli-tis.

RECONVALESCENCE AND DEATH.

To wind up the clinical part of this work I will now write about this

chapter. The animals that escape from the disease drag through a long reconvalescence. They eat very little, nutritioon is impaired and call attention by their evident state of decadence and leanness. One of the advantages of the specific treatment is just the abbreviation, in advanced cases, of the reconvalescence. This organic misery is due to the vital organs being affected. In the cases of the toxic modality, the less of weight resists every kind of interference. When it attains a certain degree prognosis is always of ensuing death.

There is as yet no treatment for the state of sclerosis of the renal parenchyma which brings about this state of affairs.

When the case is progressing towards a fatal outcome. the temperature chart indicates a decided lowering of the temperature some days or hours before death.

I have already mentioned this some pages back. In the chronic forms of the disease death is usually preceded by a slow agony. In the acute forms the contrary is the case.

Death is fulminating. There are no premonitory signs.

EPIZOOTICS AND GEOGRAPHY AND THE DISEASE.

The disease, the clinical aspects of which have just been outlined, reigns enzootically, with severe epizootic outbreaks, in the fields of Brazil.

These epizootic outbreaks no not obey a characteristic rhythm. In the year 1919 the disease spread with the characters of a panzootic.

By seeing the havoc wrought on cattle of all ages, sexes and races, I was able to gain an impression of the scourge that cattle-plague must be in a country in which cattle-breeding is undertaken.

In one of the distincts of Minas Geraes in which I was able to follow the evolution of the disease a friend who lives there informed me that the disease has been known there from remote times and that the epizootic waves do not appear certain years, but that they coincided with the ending of another epizootic, that of foot-and-mouth disease.

A panzootic like that of 1919 I have never heard of anywhere:

An old inhabitant of Queimados a small settling near the station of Francisco Sá, Central Railway of Brazil, Branch of Curralinhos to Montes Claros, told me that he had known the disease for thirty years, and that he had not seen such a violent outbreak for more than 14. The epizootic spread of 1919 made itself known by its extension and the number of animals affected at the same time. In the State of Minas Geraes (chiefly in the Northern and western parts) there died that year about 60.000 heads of cattle, adult or otherwise, in a few months' time.

The epizootic of 1911—1912 was also of a certain intensity, but it limited itself mostly to calves, and more specially the very young ones.

From then up to 1919, I was only able to get foci of more or less intensity, without the characters of an epizootic, let alone of a panzootic.

In the panzootic of 1919 all races indifferently would die when in the centers of disease. Adults and suckling calves fell victim to the disease. Of course the younger the calf, the less resistance he would offer. Lowland and highland were indifferently affected.

The banks of rivers and plateaux of a few thousand metres (State of Paraná) could harbour the virus.

The approximate number of animals killed during the year of 1919., which I valued at 60.000, is the base for the following estimate.

Supposing each head of cattle to be worth 120$000 Brazilian currency, the

total sum lost by the farmers of the State of Minas Geraes, and consequently by the country, would be of 7:200:000$000 (seven thousand and two hundred contos de reis). The loss was surely very much greater. There died animals that had cost more than 1:000$000.

The zones of good pasture and the poor regions were equally affected.

The oxen used for drawing carts, usually better fed than those left out on the fields were not spared. In Minas Geraes there is a a part of the year which corresponds more or less to the beginning of spring and to the summer which the cattle breeders call the «tempo das aguas» (Wet season). The winter is dry.

There are great rains, chiefly during December. Already in October the showers begin.

In March rain is still fairly frequent. There are exceptions to this rule and I have seen some years in which this order of seasons was not observed.

But there appears to be no doubt that the rains of April and of August are, not only less frequent, but or less volume.

Now the appearance of foci of *peste dos polmões* coincides always with the reason of rains.

During the rest of the year there may be one or another more or less dintant focus of the disease, with a low percentage of deaths (very much less than during the epizootics). The panzootic of 1919 was an exception to the rule for it continued into the dry seasons. The mortality was of 99—100 % of cases, adult or otherwise. In the epizootics of other years it is less considerable. It attains 90, 80 and 70 % of cases observed.

MARQUES LISBOA and EZEQUIEL DIAS showed in the epizootic of 1911—1912 a percentage of about 95 % of deaths among calves. VRYBURG, in Sumatra, saw a mortaly of 10 % of the cases observed. This low figure of deaths is what is seen here during the dry season, when the disease reigns enzootically.

During this time of the year the isolated cases of the chronic modalities are mild. The calves are, in my opinion, reservoirs of virus. The disease may have an evolution even of 214 days. There are cases of 180.

In these cases the disease is almost always unapparent and, during all this time, the carrier may spread he disease with umpunity.

And the cattle-breeders will only let themselves be impressed, when months afterwards, from that focus there arises an epizootic outbreak.

The loss of one calf does not worry them much at the time. But they forget that the life of that calf sometimes means the life of the whole herd.

I must mention once more that during the lengthy evolution of the cutaneous and toxic modalities of *peste dos polmões* the animals do not remain lying down or confined to straight limits of ground. Even if they have to walk slowly and step by step they have enough strength left to cover considerable distances.

It is enough for some cause of lowering of resistance (such as foot-and-mouth) disease to appears among this cattle living with reservoirs of virus in their midst for the epizootic to break out. For a long time it was thought that *peste dos poimões* was limited to calves. The absence of real panzootics must have been what led the writers to make this mistake. I have already shown that the disease affects, not only calves, but cattle and goats of any age. The study carried out has also convinced me that ticks are the proved transmissors of the disease. It is possible that there are other means of transmission besides this one. The progress of the epizootic wave has nothing characteristic. It invades little

by little the fields and the appearance of the disease coincides, not unoften with the camping of herds arrived from far away. The panzootic of 1919 coincided also with the arrival of great levies of cattle from the interior of Minas Geraes, Bahia and Goyaz. The disease has already been ascertained in the State of Minas Geraes in the suburbs of Bello Horizonte, in the districts and cities of Juiz de Féra, Formiga, Patrocinio, Oliveira, Queluz, Paracatú, Serra da Canastra, Lavras, Pomba, Passos, Santa Luzia do Rio das Velhas, Barbacena, Dr. Lund, Vespasiano, Pilar, Silva, Jardim, Curralinho, Lassance, Pirapora, Curvello, Montes Claros, Francisco de Sá, Buenopolis, São Paulo de Muriahé, Teixeira Soares, Anta, Benjamin Constant, Sapocaya, Porto Novo, Corrego d'Anta, Carmo da Matta, F. de Vasconcellos, Queimados, Bocayuva and Grão Mogol.

I believe there must be many other districts and towns in which the disease reigns without our knowing of it. When I mention districts and not merely cities this expresses a true state of things, for in many (the majority) of cases, round a city there are a great number (tens) of miles of infested zone. In the last panzootic I was informed that all the interior of Minas Geraes right up to the limits of the States of Bahia and Goyaz was being devastated. Details are wanting wherefore I cannot transcribe anything, here. The telegrams, letters and applications directed to the Director of the Post of Observation and Veterinary Ward at Bello Horizonte, not only by farmers but also by the Secretary of Agriculture of the State of Minas Geraes are the best that we could publish. *Peste dos Polmões* in its varied and complex clinical forms exists in the States of Rio de Janeiro, Paraná, São Paulo, Rio Grande do Sul, Bahia, Goyaz and Matto Grosso.

From these last states I believe the disease to be brought to Minas with the cattle that comes to winter.

A map is given showing the geographical distribution of the disease according to the information I possess. It may perhaps be possible to modify it later.

In studies carried out at the Institute of Hygiene at Pelotas, State of Rio Grande do Sul, I ascertained for the first time the existence of the diseasé in that city. The disease is fairly diffused in the state.

At the beginning of summer the cases make their appearance, at the time when ticks are also making themselves felt.

During winter they become rarer.

NATURAL AND EXPERIMENTAL DISEASE. PATHOLOGY.

The studies on this subject are the result of 37 necropsies which I have carried out.

Of course I chose what I had observed best so as to make the work reliable.

I might bring out more than half a hundred post-mortem examinations. But unavoidable circumstances make observations imperfect or deficient. In any case, those who know the material conditions in the interior of the country will not only excuse deficiencies but will even have foreseen them. And if anything useful has been acheved, after overcoming material and moral resistance, one must consider oneself well rewarded.

I was obliged to make a careful selection among the numerous post-mortems carried out, sometimes very long affer death, at other times without the necessary help. The same selection had been made with regard to the inoculation of organs in culture media.

The 37 post-mortems are from all the forms of the disease.

It is obvious that nothing can be said here about the light forms.

The great number of necropsies were not wasted. We will be able to obtain from them important facts about certain lesions and certain organs. As a whole they were abandoned; in certain details, they were not.

Pathological examination was made under the two headings:

a) Macroscopical and b) microscopical.

a) Macroscopical Aspect of Lesions.

1) Acute Form. Inspection of an animal died as a result of *peste dos polmões* varies in its result according to whether the chronic or acute form of the disease is being dealt with. Naturally the acute form, on account of the swiftness of the attack does not allow the animal to lose the nutritive reserves accumulated. As a consequency these animals are always healthy looking. One would think they had been fulminated in the midst of perfect health. 24, 48 72 hours are not sufficient to waste away the live reserves of a bullock. The fur is normal and the natural cavities show nothing special. There are no polmões or subcutaneous phlegmons. When the body of an animal died with the acute form is opened the immediate impression is that of a septicæmic disease. One understands that there are no foci of parasites but rather that the whole organism is impregnated with the virus that caused death. And the contrast is flagrant with that of the chronic forms. The subcutaneous cellular tissue shows small, reddish (hæmorrhagic) local lesions, sometimes of small surface, disseminated all over the body.

These focal lesions are sometimes of great intensity and extension. When one of these lesions is dissected with a small knife or scalpel, dark red bood and some serosity is always found. These small hæmorrhages represent on a small scale the power of congestion of the parasite. In the subcutaneous regions various oedemas of a gelatinous consistency are to beseen. From these runs a reddlish serosity.

In the experimental acute cases there is, at the point of inoculation, instead of the thick creamy pus of the chronic forms, the same gelatinous oedema already described. And when this does not happen, there is seen a fluid, yellowish and fetid pus which is not sharply limited. Membranes of different aspects are drawn along the undermined region. These are the cases that take longest to die (4 days for the acute, 6, 7, 12 days for the subacute).

In those cases which die within 48 hours, there is not even time for the formation of pus. There is subcutaneous or intramuscular accumulation of pus as in the chronic forms.

The pericardial cavity is filled with fluid, not unoften lemon-coloured, gelatinous.

The fact is that in these cases the fluid is extremely fibrinous. Hardly has it been from the serous cavity, the rest of the still fluid part coagulates in mass. It reminds one of what has been observed by FROIN in human cerebrospinal fluid. The fluid is inconstant as to colour and volume. Lemon-colour is the most often seen.

The myocardium is soft and flabby (consistency of boiled meat). Cavities filled with dark semi-coagulated fluid. Endocardium smooth and polished.

Lungs are of a dark wine-colour. Palpation reveals hard consistency, absence or lessening of crepitation in great extensions. Upon section the surface frees dark-red fluid containing air. A whole lobe may present this aspect. Not unoften the whole lung may have this appearance.

In the pleural cavity fluid of lemon-yellow colour has been found. In the absence of this there is marked thickening of the parietal and visceral lea-

ves of the serous membranes (Calf 67).

In other cases besides evident zones of great congestion (in the post-mortems congestion of the lungs was always found) or hepatisation, on the surface of the parenchyma may be seen scattered dotting of red colour, reminding one of those already described in the subcutaneous tissue on a smaller scale .

They are pin-point shaped foci of haemorrhage in the pulmonary tissue.

Tracheo-bronchic lymphatic chain sometimes voluminous:

The apperance of the abdomen, before it is opened shows a considerable distension of its walls. In the greater part of the cases there is generalised peritonitis. There are cases of generalised purulent peritonitis. Others with an abundant lemon-coloured exsudate. The intestinal loops filled with gas compress the walls of the abdomen. At a glance one sees that all the gastro-intestinal mass is intensily reddened. This may be extremely marked in some cases.

In purulent peritonitis (such as calf n. 1 in the series of acute cases) one sees grumes of purulent, viscous, yellowish material adhering to the surface of the different organs of the abdominal cavity. These are thick foci of pus. Here and there there may be seen an attempt at adherences, It is as if the organism tried to limit the lesions by shutting off their means of spreading. This purulent process is rarer. Out of seven cases only one shown generalised peritonitis, Of course in these cases inflammatory processes are seen round almost all the organs of the abdomen for instance perihepatitis, perisplenitis and so forth.

Upon examining the abdominal organs one by the one the following is to be seen:

Stomach and intestines very much injected. They have a bright red colour. The surface of the mucous membranes has the same colour. Gases are producing considerable distension. There are fluid or semi-solid faeces, dark-coloured and fetid, in the whole intestine.

Liver turgid, very large, with a very deep red colour and soft. Upon section a dark red surface is seen, from which there runs plenty of fluid of the same colour.

Spleen generally large with a surface of dark wine colour or like coffee dregs from which there flows with ease a dark-red fluid. Splenic pulp deliquescent.

Pancreas shows nothing worth mentioning.

The kidneys are seldom spared. Sometimes the perirenal tissue shows a gelatinous œdema similar to that of the subcutaneous cellular tissue and the point of inoculation. The capsule is removed with difficulty. Kidneys large. Surface of section is dark red, uniform, and allows a great deal of dark redfluid to flow. The two layers of tissue are very hard to distinguish. At times small foci of a very deep red and bluish are to be seen; in these places the tissue is easily broken up.

Bladder constantly full of fluid, lemon-coloured urine.

2) Chronic Forms. Among the chronic forms only the severe will be described, beginning with the cutaneous.

Contrarily to what happens in the acute form, the animals die in a visible state of organic misery. The cadavers are generally extremely emaciated. The region of the articulations is not seldom enlarged in appearance.

The skin is riddled with abcesses of different sizes, some ulcerated others not. These abscesses are very plentiful. But they must not be mistaken with the lesions produced by the larvæ of *Dermatobia hominis,* the «*berne*». When one of these maggots dies producing an abscess, there are always seen in the skin

the vestiges of its passage. The abscesses are or are not frankly in communication with the outside, whereas the phlegmons produced by *peste dos polmões* (cutaneous modality) are absolutely closed. With the evolution of the disease some become ulcerated, bringing about wide openings. In the clinical part, the contents of these phlegmons or *polmões* has already been described. In the majority of cases the *polmões* are enclosed within lodges of resistant, fibrous tissue, which limits the purulent collection from the subcutaneous tissue. In one or another case, however, the pus overcomes the protective sheath and undermines big regions (scapular and croup) and makes its appearance far away. In this case as in the other the pus respects the deep aponeuroses. It rarely involves the muscular tissue. These vast zones of pus might, at a casual glance, be taken for œdema.

In the natural cavities nothing worth mentioning is to be found.

When one begins to open the body, a more less large zone of infiltration is to be seen round the *polmões*. Round the phlegmons and even away from them there are zones of dark-red colour, which do not free any fluid or blood upon section. When the muscle is involved, the purulent mass makes a tunnel which becomes narrower as it advances, ending in a point. The whole thing gives the impression of a funnel. It would seem that the muscle opposed more resistance than the cellular tissue and prevented large purulent expansions. But the pus is limited in the muscle also by a membrane of the same consistency as in the cellular tissue. But round the necrotic zones proper, there are others surrounding it, in which there is a real infiltration. They are bright red zones round the lodges of the *polmões*. This is a reproduction of what has been seen regarding subcutaneous *polmões*.

When a zone undermined by pus is opened no fibrous capsule is found. In such a case the sheaths are the deep aponeuroses and the pus has a tendency to collect in the lower parts. It corrodes whatever stands in its its way. And this is why in some post-mortems, enormous zones are found in which the skin is detached from the underlying tissue.

The subcutaneous lymphatic nodes are almost always very enlarged and hard: they roll under the fingers and rarely adhere to the neighbouring tissue. There are cases in which inspection is enough to demonstrate the enlarged lymph-nodes round the ribs.

A multiple inflammation of the serous membranes is fairly constant. Fluid of variable colour and appearance is found in the pericardium, peritoneum and pleurae. Only one or two of these need be affected. The order of frequency in which this happens is the following: pericardium, peritoneum and finally pleuræ.

The fluid found in the pericardium may be anything from hæmorrhagic to lemon-yellow. There is seldom very much of it. When removed from the pericardial sac the fluid coagulates, even when lemon-coloured (fibrin).

The heart muscle, whether flaccid or not is usually seen to be filled with yellowish-white gelatinous clots. Sometimes on the surface of the myocardium a few red points are found. At other times white patches covered with a fibrinous sediment or not are observed.

The blood-vessels show nothing worth mentioning.

The pleurisy may be followed by a thickening of the visceral and parietal leaves of the serous membranes. No hæmorrhagic fluid was seen,

The lungs, singly or both together, show dark wine-red colour. Palpation gives the impression of a hard resis-

tant body without crepitation. Upon section a dark-red surface is seen, from which there flows plenty of fluid of the same colour and containing no air. This aspect is seen either in the whole lung or in zones of different size.

It is to be observed that the lungs are often seen with the appearance of a liver. The pleural adherences are not only from parietal leaf to lung but also between the lobes of the lung, which gets the appearance of one solid block. Upon section a grinding noise is heard. When the lesions are more limited, the fluid freed upon section is mixed with a variable quantity of air. In this case palpation produces crepitation and the colour tends more towards red or blue. Concomittant tuberculosis is rarely found. In more than half a hundred autopsies, I found only once microscopic and macroscopic lesions of tuberculosis. These lesions are too well known to be described here.

The tracheo-bronchial chain of lymph-glands is enlarged. In this modality of the disease, in rare instances, the lung may show a real «polmão». The abscess, although rare, is usually double and located on the apices. Calf number 400 had both the apical regions completely infiltrated with pus. There is in the lung tissue the same sort of process as has been seen in the skin, hypoderm and muscle. A fibrous capsule (cf. phot. ns. 20 and 21) surrounds the semifluid granular and fetid mass of pus. The appearance from outside is of numerous lodges of pus. Palpation gives a corresponding sensation. But afterwards it is to be seen that the pus surrounded by one fibrous capsule, has insinuated itself in almost all the neighbourhood of the apex. When the abscess has been voided there appears an enormous cavity (cf. phot. ns. 20), which is a result of the lung tissue by pus.

In these cases the rest of the organ tisation. 200 c. c. of pus were found in one of the lungs and a little less in the other lung of a calf.

Such extensive lesions might make one think that death from hæmorrhage of the lungs ought not to be so rare in these cases of the disease. A farmer from Queimados, Curralinho (E. F. C. B.). tells me he has seen cattle with hæmorrhage from the nose and mouth (!). From the description one might think of anthrax. And that is what I took it for, when it was really *peste dos polmões*.

Trachea and bronchi are usually filled with a red serous fluid and sometimes with pus. The internal surface is reddened.

In this modality of the disease fluid is found in the abdominal cavity even more often than in pleura and pericardium.

Lymph-glands over gastro-intestinal mass are engorged. The small intestine, more than the large one has a deep red colour and is filled with fluid fæces, at times dark and evil-smelling.

In the order of frequency and extension of lesions the first abdominal organ is the kidney, next comes liver and lastly spleen.

The external appearance of kidneys does not show anything. Renal capsule is sometimes easily removed, sometimes there is some difficulty. Upon section usually a deep red surface is seen, from which there flows a considerable quantity of a deep red fluid. Urine may not be found. The redness becomes deeper towards the surface. At times small and sharpy limited zones are seen in which the tissue is easily broken up and has a very deep almost black colour.

In protracted cases section may show soft, yellowish surface in both regions, and almost bloodlessness, instead of the aspect described above.

Liver large, turgid, with the vesicle

filled. Upon section a dark wine-coloured surface is seen, from which there flows a fluid of the same colour (it reminds one of the liver of some birds inoculated with a bacterium I isolated from an epizootic of these animals in Bello Horizonte): The tissue of the liver is easily broken up.

Spleen usually voluminous with a surface the colour of wine or coffee-dregs. Pulp deliquescent, allowing the white trabecles to be perceived and freeing with ease a dark red fluid.

Pancreas, bladder and adrenals show nothing worth recording.

BONES

The bony lesions of VRYBURG's disease wind up with necrosis.

The agent locates itself specially in the epiphyses of long bones, where it evolves surreptiously.

But as the lesions are usually close to the articulations or even in the articular extremities of the bones, they make themselves felt, clinically, by hindering the animals in walking. There is local pain, which renders walking difficult or impossible.

When the pus produces a protrusion of the skin under the form of a small juxta-articular polmão the bone is already necrosed. In some cases a fistulous channel is formed (cf. photograph n. 21.).

A probe introduced in this channel allows one to feel that the walls are irregular and hard. Bony sequestra are small though numerous.

They are mixed with plenty of viscous evil-smelling pus.

The periosteal tissues found in the neighbourhood of the opening of the fistulous channel are adherent to the periosteum, which is distributed along a certain extension.

The process looks as it were, primitively, of suppurated osteo-myelitis. The cutaneous polmões connected with the bony lesions when they are present, have appeared later; they are secondary abscesses.

And it would be incomprehensible that a small purulent collection, almost always limited by a strong capsule, should provoke such extensive necrosis. of the bone.

And besides, clinical observation shows that when the cutaneous abscesses in the neighbourhood of the articulation are wanting, the articulation and bone are already extremely painful and sen sitive. The pain may be so great that the animal is unable to walk.

The appearance of the bone marrow in the neighbourhood of the lesions is yellow.

Microscopical examination reveals nothing abnormal.

The pathology of the *intestinal modality,* except as regards cutaneous, muscular and pulmonary lesions is identical with what has been described.

The lesions of the skin are inexistent or very small. The lesions of the lungs are more important. There are no abscesses.

But a marked prevalence of intestinal lesions and lesions of the neighbouring glands is noted. The vessels of the intestinal walls are very evident. The mesenteric glands are enlarged.

What is left out in the organs is to be found in the intestine. The intestine, and principally the small intestine, is full of hæmorrhagic faeces or even of pure or coagulated blood.

There are real ulcerations of the intestinal walls. No internal or external polmões are to be seen. These are cases of a real hæmorrhagic enteritis.

TOXIC MODALITY. The bodies of the cattle are very emaciated. The skin is loose, the bones prominent. Here and there old cutaneous cicatrices are to be seen, on which the fur is thin and scanty. Cutaneous abscesses are seen on-

ly exceptionally and even then are very reduced in size and number (at most 1 or 2). The natural cavities show nothing special.

Internally the serous membranes prove to be involved, containing fluid, showing thickening, or having only a limited inflammation, Sometimes it is the pericardium, sometimes the pleuræ or the peritoneum. The lungs are always very much affected. They are hard, contain little air and are of a deep red colour, either in zones or altogether. Upon section, ther deep red surface frees a fluid of the same colour containing little air.

Trachea and bronchi are full of deep red foamy mucus.

Heart, spleen, stomach, pancreas and bladder have often nothing special to show to the unaided eye. The liver may be very large, turgid and friable; upon section, a deep red surface is seen, from which there runs a good deal of fluid of the same colour. Kidneys at times small and hard with a bloodless surface upon section, showing up the two layers; at other times large and deep red, with zones of lardaceous appearance, of a dull white or with a yellow tone. These zones go right up to the medullary layer of the kidney. Upon section the two layers are hardly to be distinguished on account of the deep red colour which predomites. A fluid of the same colour is freed in abundance from the section.

The intestines are full of fluid fæces, very evil-smelling and red or not (containing blood or not). In the cases that have bloody fæces the intestinal walls are very injected. Mesenteric glands are enlarged.

b) Microscopical Aspects of the Lesions.

The studies made are based on numerous series of sections with various technical processes which it would be wearisome to describe fully here, and which may be mentioned as the need arises. For the moment let it suffice to mention that the fixing fluids used were Formalin 10 %, SCHAUDINN's sublimate-alcohol and once and again the ZENKER and MÜLLER fluids. Staining with a view to bacteriologic and histologic differentiation called for the GRAM (*) stain, hæmatoxylin-eosin, indigo picrocarmin, and the GIEMSA stain with differentiation.

I shall study: a) Skin.
b) Heart.
c) Lungs.
d) Liver.
e) Spleen.
f) Kidneys.
g) Lymphatic Glands.
h) Intestines.
i) Blood.
j) Bones.

Skin. The cutaneous lesions are only of interest in one of the clinical forms of the disease, viz. the chronic form, cutaneous modality.

(*) The GRAM method which is used for the staining of parasites, was applied with the following technic:

1) Stain with fuchsin during from 10 mins. to half an hour.

Alcohol 30 %.	10 c. c.
Basic fuchsin.	0.59
Anilin Oil.	1.0
Phenic Acid.	1.0

2) Wash out in water.
3) Differentiate in Formalin 40 %.
4) Wash out in water.
5) Place in a saturated solution of picric acid until a yellow tone is obtained.
6) Wash out in water.
7) Differentiate in Alcohol 95 %.
8) Wash in water.
9) Stain with Stilling's gentian violet for 5 mins. or more.
10) Wash out in water.
11) Lugol (Potassium Iodid-Iodine Solution).
12) Pour off without washing and apply a mixture of equal parts of xylol and anilin oil until this fluid runs off unstained.
13) Apply xylol twice and mount in Balsam.

The lesions are found at the «polmões» or cutaneous swellings.

In the acute form of the disease the subcutaneous cellular tissue shows differently sized hæmorrhagic foci. The corium and the epidermis have nothing special. The rupture of capillary vessels may be extensive so that great effusions of blood take place.

But when a section of the skin contains side by side healthy and affected tissues, the results are very different. I made many sections comprising all the margins of the cavities hollowed out in the skin (and full of pus, the polmões). As the site of the big lesions is approached the superior elements of the skin are seen to disappear progressively. In the closed polmões all the upper layers of the skin remain intact. The Stratum corneum of Malpighi, the elastic-muscular layers, to a certain extent show nothing that reveals the severe inflommatory process that is going on under the skin.

In the polmões in an advanced stage of their evolution the things are different. The strata of Malpighi become distended and very thin. The fur becomes scarce or even disappears. The process invades the muscular elastic layers and provokes considerable destruction. It is interesting to see how this layer reacts so as to form a real barrier to the invading pus.

In the microscope the barrier of leucocytes is to be seen. Beyond this leucocytes are sparse and few in number and disappear towards the stratum of Malpighi.

The necrotic zone of cutaneous tissue is to be seen clearly against an infiltrated and more or less preserved zone of muscular-elastic tissue (fibrous capsule mentioned elsewhere; cf. photographs ns. 38, 39 and 40).

In the necrotic zone itself, practically nothing is to be distinguished. The whole place is taken up by a purulent, brownish (hæmatoxylin-eosin), granular mass. In the midst of this, one may perceive, here and there, vestiges of muscular fibres, without nuclei and with a faint mauve colouring, some of the fibres still striated; a few elastic fibres are very much altered. In this zone even the leucocytes are destroyed. Micro-organisms are found with the most varied appearances, shapes and sizes. Amongst these are bacilli with the morphologic characters of those of VRYBURG. The bacteria are better seen at the extreme limits of the zone of necrosis—towards the lumen of the cavity.

When the infiltrated zone is examined outside that of necrosis three or four destroyed muscular fibres may be seen among other more or less preserved ones. There are no giant-cells. The vessels are distended and full of blood-elements. There is an infiltration of different kinds of leucocytes with predominating lymphocytes.

The richness of the infiltrated zones in muscular elements (of which the skin has a great deal) reminds one within certain limits of a section of inflamed muscle (acute myositis).

In the ulcerated abscesses, there is a destruction of the skin with all its elements at the site of ulceration. There is left a wide, irregular orifice, through which drains the pus. The rest of the cavity is lined by the layer of elastic fibrous and muscular tissue, which is more or less infiltrated and makes up the protective capsule for the pus.

Heart. Histologic examination of different zones of the myocardium were made; the myocardium was always found intact, as was also the atrioventricular bundle. There is a certain contradiction between this assertion and the macroscopic aspect of the heart in the acute form, for instance, in which the

myocardium certainly gives the impression of being affected. It reminds one of the human heart in plague. Observation still more extensive than mine may yet clear up the subject from the microscopic point of view.

The same cannot be said for the serous membranes that surround and that line the myocardium.

The pericardium may show fibrinous inflammatory lesions, or, at times, those of simple inflammation. The residues of inflammation are recognisable.

The lesions of the endocardium verified were inflammation and hæmorrhages. The former were lesions of fibrinous parietal endocarditis (the constituted fibrin is to be seen); there is more or less of an invasion of polymorphic leucocytes. Hæmorrhages may be present at the same time; in a same section they were represented by little foci of hæmorrhage under the endocardium. Not rarely they extended diffusely along the endocardial tissue, but did not extend beyond the proximal point at which this joins the myocardium.

Lungs. Of the tissues of the animals victimised by the disease these are the most constantly and extensively affected. The lung-disease may evolve according to two great processes: the fibrinous-cellular alveolar pneumonia and the interstitial.

Between these two types and without their characteristics there may be congestive processes of different extension.

It is rare for the inflammatory process to assume the acute, purulent, parenchymatous character of pulmonary abscess.

The first type, the *fibrinous cellular alveolar process,* is more acute than chronic. I believe that it arises and kills in a short space of time. In its appearances it reminds one of lobar pneumonia as it is seen on human subjects. It is one of the most capital lesions in certain cases of the disease. In the dilated alveoli are found plenty of leucocytes, red-corpuscles, fibrin and epithelial cells. In the network of fibrin the figured elements are sometimes very abundant. In some places the lung-tissue looks like a compact parenchyma, such is the stratification of fibrin and cells. Alveolar walls thickened. Capillaries dilated and protruding in the lumen of the alveoli. There are zones with leucocyte infiltration in the walls of the alveoli. Among these leucocytes many-lobed forms predominate, but forms with one lobe are also found with different types. There are no giant cells. No proliferation of the alveolar epithelium was seen. It must be observed that the effusion of fibrin is not equally plentiful in all alveoli. The larger vessels are found full of blood. In one case I found a real pulmonary apoplexy of vessels of fair caliber, with almost pure thrombi of leucocytes (the animal showed 40.000 leucocytes per cubic millimetre of peripheral blood (Calf)).

As may be seen the process is one of acute exudative fibrinous-cellular (leucocytes and epithelial cells) alveolitis.

In the cases of interstitial lesion, sections of lung tissue show a very different appearance, similar to that of the interstitial process of he human lung. The appearances of the sections is characteristic. At some points the alveoli are seen to be well preserved with delicate walls surrounding an empty space. At other points the alveoli are two or three times as thick. At such points the lumen is reduced almost to nought. Considerable infiltration of alveolar walls. Peribronchial infiltration with a predominance of Plasmazellen. In the neighbourhood of these foci there is frequently a fibrinous cellular exudation in the alveoli (leucocytes, epithelial cells, fibrin). Bronchial epithelium at times detached. At others

it has proliferated. Bronchi are also filled with a mass in the middle of which epithelial and blood cells (many leucocytes) are seen.

Sub-pleural fibrinous processes are not uncommon. When fibrinous processes are found in the lung tissue they also make themselves felt in the pleura. Fibrinous pleurisies with a great thickening of the serous membranes, or simple pleurisies are to be seen, not to mention the vestiges of previous inflammatory lesions, in which a connective tissue formation has replaced the acute inflammatory layers. These lesions I will exempt myself from describing, as well as the congestive lesions which accompany the various processes described in the lungs affected.

The same cannot be said with regard to lung abscesses in lesions like pneumonia. In human pathology there are commonly thought to be a more advanced stage of pneumonic lesions, especially when the patients were heavy drinkers In our cases the appearance of the pulmonary *polmões* was similar to that of the cutaneous. The macroscopical structure was identic (see above, the macroscopic description). The sheath which surrounds the pulmonary abscess is formed at the cost of the elastic and muscular fibres of the parenchyma of the lung. It seems to me that in some cases the abscess begins with the general process of the parenchyma, or else what does not appear impossible is that it should represent a metatasis from the *polmões* found in the skin.

The parenchyma is very much affected in these cases of pulmonary abscess («polmão» of the lung, internal «polmão»). Hepatisation is complete round the purulent collection. There is no call to describe the pulmonary abscess. I may however mention that necrosis is most extensive.

The very rare cases of concomitant tuberculosis need not be gone into as it would only mean repeating what is already only too well-known.

Liver. The lesions of this organ are of congestive nature. Blood-vessels entirely full, including capillaries. In some points (near the centres of the lobules) there is rupture of the capillaries and spreading out of the red-blood corpuscles. In the zones where the red-blood-cells are accumulated, the appearance of the lobules is of a double range of red-blood cells and liver cells starting from the same center.

The dilatation of capillaries is evident. The lobules keep a well preserved appearance. Liver cells are clearly stained. At the points where there are ruptures of the vessels this appearance is modified and the cells and nuclei are very badly stained. On all sides the vessels and capillaries are full of pigment-holding elements, the resul of the destruction of red blood-cells.

Capsule of liver not unoften thickened.

Kidneys. Lungs and kidneys are the most intensely and extensively affected organs in VRYBURG's disease.

The general processes seen are of two orders: the acute and the chronic.

In the acute cases the principal feature is hæmorrhage. This would be the «congestive form» of acute nephritis of HERMANN and MOREL. Congestion occupies the cortical rather than the central layers. All the vessels are turgid, full of blood which has poured out in some places. Accompanying these hæmorrhages there are microscopic abscesses in great number, chiefly near the Malpighian bodies and outside Bowman's capsule. In these foci many-lobed leucocytes are dominant and in one case I found a Gram-positive bacillus described in the chapter on Microbiology of the disease.

The presence of this commonplace bacillus in the kidneys may be explained by the relatively long period of agony

of the animal and the penetration of intestinal bacteria into the circulation at this time. The bacillus is sometimes found in chains in the parenchyma, with its extremities cut in two facets.

The rest of the parenchyma has the appearance of a mixed nephritis (a tubular capsular glomeronephritis according to MALLORY's classification), in which the red blood-cells are certainly a predominating feature. (There are formations of fibrin everywhere, red blood-cell casts and so forth).

In the long-standing cases the lesions fall into two groups. The first would be a mixed nephritis of the tubulo-glomerulo-capsular type according to MALLORY, or a chronic parenchymatous nephritis, hæmorrhagic type according to KAUFMANN, or a sub-acute scarlatiniform type according to HERMANN and MOREL.

The second would be of the vascular group (Vascular nephritis—arteriosclerosis) of MALLORY or a chronic interstitial (sclerosing) nephritis according to KAUFMANN and HERMANN and MOREL.

In the first of these types the dilated blood-vessels immediately call one's attention. In some points they are so widened that they compress the tubes. Tubuli contorti with desquamated epithelium, full of blood and casts made up of red blood-cells or epithelium. The rest of the tubes are also filled with an exudate, containing or not red blood-cells, which are either isolated or clumped together so as to form casts. They are usually faintly stained. The walls of the tubes show an epithelium with a well stained nucleus and protoplasm. There are cases however in which in the middle of the lumen of the tubes red blood-cells and epithelial cells are to be seen in a network of fibrin, the epithelial cells with their protoplasm destroyed and their nuclei well stained. In other tubes granular and epithelial casts are found. In some zones the epithelium of the tubes remains in its place, where it undergoes complete degeneration as far as necrosis.

Certain points of the section seem to show a thickening of Bowman's capsule. Between the glomerulus and the capsule of some of the Malpighian bodies there is an exudate containing a few red blood-cells to be seen. Proliferation of the interstitial tissue was not clearly seen. In one of the cases of this group, which was made use of in this paper (Ox D), the metachromatic reaction with gentian violet was obtained. The amyloid was found in the walls of the larger vessels and in the connective tissue of the kidneys.

In the second type the dominant feature is the connective tissue proliferation. The renal epithelia became hard to distinguish in the band of sclerosed tissue newly-formed in the layer of the Malpighian bodies (peripheric layer). Around it the renal structure was more or less preserved. In the affected zone the connective tissue invaded and replaced the Malpighian bodies, which were hardly to be recognised. The tubes had disappeared, except for one or another atrophic tube almost without lumen. Small vessels were not to be seen only the slightly larger ones, which showed very much thickened walls.

Outside the sclerosed zone thin-walled and very much dilated tubes are seen. Epithelium with protoplasm affected. In some paces the protoplasm is reduced to a very wide-meshed network, with a badly-stained though clearly outlined nucleus.

Spleen. At times foci of hæmorrhage are to be seen in the splenic pulp. Extensive hæmorrhages are not uncommon, with a real substitution of the lymphoid tissue by red blood-cells. Numerous pigment-holding leucocytes can then be seen with ease. Capsule without any lesion worth mention.

Lymphatic Glands. Capsule thickened. Connective tissue trabeculæ ditto. Vessels turgid. Slight lymphoid hypertrophy. In the meshes of the lymphoid tissue microorganisms are to be seen-cocci and diplococci. There are no zones of caseification (or at any rate none were found) or of hæmorrhage.

Intestines. One of the most interesting autopsies, in which intestinal lesions were evident had to be abandoned on account of concomitant babesiosis (Piroplasma bovis) and, what is uncommon, of intestinal actinomycosis, as was shown by microscopic examination.

In many cases the intestines were found intact. It may however be asserted that in some others the lesions are chiefly congestive, with or without desquamation of the intestinal epithelium; the lesions may even tbe destructive in the mucosa and provoke a large infiltration in the submucosa. Villi with very much dilated vessels, full of fibrin and figured e'ements of the blood. Mononuclear infiltration chiefly at the base of the villus.

All the vessels of the submucosa so dilated that they protruded in the muscularis mucosae and in the external wall. Vessels some of then filled with red blood-corpuscles and leucocytes and others with a real network of fibrin with a few leucocytes. The appearance in some places of a real thrombus.

At the points of compression the muscularis mucosæ becomes thin. There is an obvious thickening of the submucosa and in certain places a polymorphonuclear infiltration. The vessels of the mucosa are also dilated and full of blood.

There is at times a generalised but discrete infiltration of polymorphic leucocytes.

Three microphotographs of sections showing a special process of the intestinal wall are given.

They are from *peste dos polmões*, mixed form, with severe pulmonary and intestinal lesions, besides those of the kidneys and skin.

It was a real syndrome of pneumoenteritis, of a chronic nature, and with cutaneous manifestations.

The sections show a process of hæmorrhagic and diphteritic enteritis (MAC CALLUM, A Text-Book of Pathology, 1920, pg. 267 and 617) or enteritis diphtherica mortificans. (KITT, Manuale de Anatomia Pathologica degli Animale Domastice, tradotte dal. Prof, A. BALDONI, vol. 7, pag. 60, 190).

Two photographs are taken with low magnification and one with high magnification, and pass at the height of the false membrane and the necrotic zone.

The mucosa, with patches of necrosis, is substituted by a false-membrane made up of fibrin, leucocytes, red blood-corpuscles and so forth. In the zone of necrosis the rupture of small vessels is to be seen. The underlying tissue is disorganised by the great infiltration of leucocytes and the parcial destruction of the essential elements.

The large blood vessels are gorged with blood. In cattle-plague, swine-plague, among other diseases, this sort of process is found in the intestines (KITT, cf. above).

Striated Muscle. The study of the microscopic lesions of this tissue were carried out upon the rather uncommon cases in which pus had invaded the voluntary muscle. Cattle experimentally infected was seen with these lesions. The general survey of the sections shows a severe process of myositis with necrosis of the muscular tissue. In the centre of the section (edge of the cavity hollowed out in the muscle by pus) thenecrotic zone can be easily distinguished. It is a homogeneous zone with mauve tint (hæmatoxylin-eosin) slightly granular in some points. Some leucocytes and

a few muscular fibres, cut in either sense unclearly outlined, with a light mauve tone, without nuclei, with double striation sometimes retained, can be made out, although with difficulty. The appearance and colour of the muscular fibres changes as we recede from the zone of necrosis. Consequently fibres of a pale pink colour, with clear outlines, and nuclei weakly stained and finally fibres with a light red protoplasm, well-stained nuclei, clear outlines and double striation in perfect condition are to be seen. Mixed with these is a great number of micro-organisms.

The pus of the muscular abscesses comprises therefore disaggregated muscular fibres. A little further away from the cavity may be seen a classic process of myositis. There is a considerable infiltration of lymphocytes, which becomes attenuated as we recede from the destroyed zone. The infiltration is made up mostly of small lymphocytes. Blood-vessels filled considerably.

Blood. This has been described elsewhere (cf. Clinical Part).

Bone. The technic used was the ordinary technic for descalcification, imbedding in paraffin, and the GIEMSA, hæmatoxylin-eosin, GRAM stains and so forth.

The bony tissue is rarefied. The bony lamellæ are thinned. This condition is more pronounced at the edge of the necrotic zone where bony lamellæ are seen in the middle a uniform, granular purulent mass. All the essential elements are surrounded by pus.

In this mass, Diplococcus polmonis b is particularly abundant,

In the parts which are not involved osteoplasts and Haversian system are preserved. But there are no traces of these in the microscopical fragments of bony tissue which are seen isolated in the middle of the pus.

ÆTIOLOGY AND PATHOGENICITY.

From what has been said thus far it would appear unnecessary to attempt a detailed description in this chapter. But a few considerations suggested by the facts themselves might not be out of place.

Peste dos Polmões, in its various clinical forms, is caused by one and the same micro-organism, a filterable virus, associated in the different clinical forms with varying bacteria. By filterable it is understood that it will pass through the filters used for this purpose in laboratory-work.

Bacilli of the type described by VRYBURG are found with great frequency in some epizootics. At these times they may be the dominant kind of bacteria but in other cases they may be altogether wanting.

This unequal association also causes varying clinical features. Long observation and study of dozens of cases of the disease were required before they could all be pieced together as has been done.

At first I took the bacilli of VRYBURG's type to be the ætiological cause of the disease and for a long time I pursued my work with this view.

But later, when this line of research had proved fruitless, I thought of the possibility of a fungus similar to that of SORILLON's disease. At the time I had been working chiefly upon fungi: Comparative pathology would make it appear to be an exception for a fungus disease to be so extensive and varied. Bacteria and protozoa are the cause of pandemics and panzootics. The so-called epidemics, as they are rather exaggeratedly styled, ascribed to fungi, are usually very limited.

But so as to avoid any prejudiced outlook work was undertaken along these lines.

These various studies were abandoned only after the later and, as it seems, correct ideas began to give results.

But they are not to be regretted. Bacilli of the type described by Deli are found with some constancy in pus of *polmões*. They are not found in every instance nor are they found unmixed in closed lesions. Nor was it possible to complete PASTEUR's cycle.

They are also pathogenic, no doubt, for many animals including calves,

But it is impossible to obtain *peste dos polmões* by their inoculation.

In Bacteriology there are many equally misleading facts on record.

Streptococci are quite commonly found in small-pox and sometimes alone in the pustules. They are also pathogenic as regards man and animal. And yet they are not the cause of the disease. The bacillus described by PFEIFFER occurs more or less frequently in grip pe, but the ætiological cause of the disease is a filterable virus.

Pasteurella forms are found in a great many diseases of animals for some of which another ætiology stands proved beyond any doubt.

A few years ago the best text-books on bacteriology asserted that the hog-cholera bacillus was the ætiological cause of the disease. Even PASTEUR's cycle seemed closed. This is a case which ought really to serve as a warning, showing, as it does, how appearances may be desceptive in experiments carried out without certain precautions. Authorities worked on the subject; the pathogenicity of the bacillus for animals (especially for pigs) was demonstrated (42, 43, 44, 45).

In the viscera, in the blood and in the exudates the bacillus is found in enormous numbers. Nevertheless the hog-cholera bacillus is not the etiological agent of the disease. The remarkable work of UHLENHUTH, HUEBNER, XYLANDER and BOHTZ, in 1908, dissipated any possible doubt (46).

Many spirilla accompany *Treponema pallidum* in syphilitic lesions. But there is no call to proceed. Almost all diseases, both human and animal, would furnish instances. Biologic reactions must also be included among arguments brought to prove the specificity of a given organism but must be considered by no means pathognomonic for the organism and the disease. In biology there is yet to be found a sign hat is pathogonomonic.

I obtained with bacilli of VRYBURG's type agglutinations when mixed with the sera of diseased animals; in one case weak agglutination was present at 1:1280. I must mention that on the same occasion controls of normal cattle gave strong agglutination at 1:640. Agglutinins, like any other antibody against a given microbe, may be formed in any organism in the tissues of which the microbe is living.

Among pathogenic fungi there are instances of the simple presence of yeasts living saprophytically in the throat (a common occurrence among tuberculous persons) being sufficient to bring about the production of specific agglunins as well as coagglutinins for other fungi. Until recently (47, 48, 49, 50) and I believe even up to the present date, the only or at any rate the best means of microbiologic diagnosis of exanthematic typhus was the fact that *Bacillus proteus* X 19, a bacillus cultivated from the urine of patients of the disease, is liable to agglutination by the serum of patients of exanthematic typhus. This curious and instructive fact is to be seen from the second day of the disease.

At the 10th day, agglutination may be obtained at 1:50.000. This agglutination has passed into medicine with the name of WEIL-FELIX reaction. I believe that such a very high titre of

agglutination, except in very rare cases, could only be obtained with certain animals (and not with any horse or bullock even allowing the best conditions) superimmunised against certain bacteria. After such a striking example it is hardly necessary to mention any others, such as the Bacillus of PFEIFFER, SANARELLI etc. I may just remark that some writers (not all, fortunately) show that it is possible to obtain patients of influenza.

The sentence written above «agglutinins, like any other antibody etc: should be completed by saying «on the tissues of which the microbe is living pathologically or as a saprophyte».

In any case agglutinins are no longer assumed to play the important role in immunity which at one time they were alloted. «The immunity acquired is independent of the amount of antibodies in the serum» BESREDKA said recently in a very interesting work on the question (51).

The virus of *peste dos polmões* is found in the diseased animals in the viscera and, more rarely, in the circulating blood. Inoculations cannot usually be made with unaltered pus on account of its thickness.

The technic employed consisted in diluting the purulent mass in previously sterilised saline solution and then carrying out the inoculation. Ways administration were subcutaneous (for the most part), intramuscular, intravenous, epidermic and digestive. The first two should be preferred. Naturally intravenous injections must not be insistted upon on account of the mechanical or even toxic accidents which injection of pus may bring about soon after inoculation. This would of course impair the object to be attained, namely to reproduce the disease «ipsis litteris virgulisque quoque».

Even now., after having made the experiments, I believe that the circulation is not best site for inoculation of virus with the intention of reproducing *peste dos polmões*. Out of a 100 subcutaneous and intramuscular inoculations in calves, 93 gave positive results (cf. grephics n. 12, 55, 24, 22, 23 and 86).

The remaining 5 % may be accounted for on grounds of individual resistance, of ignored previous affection or by an insufficient amount of virus inoculated (cf. graphic n. 9). The pus also gives results worth mentioning when inoculated subcutaneouly in guinea-pigs and rabbits. Inoculations in young pigs is less successful: In rabbits it produces with a greater intensity the syndrome described with regard to bacilli of VRYBURG's type. Thus considerable oedema, and afterwards an abscess, with infiltration round the abscess. The abscess may show all the characters of a «polmão». There is ulceration of the wall of the abdomen at the site of inoculation. Lymph-nodes are enlarged. Death occurs on 5th—7th day. Post-mortem examination shows multiple effusions in the serous membranes (multiple inflammation of serous membranes) and, not unoften, purulent peritonitis. There is congestion of all the viscera.

From these all the bacteria described, including bacilli of the VRYBURG type, were reisolated. In guinea-pigs the action is less violent although there is tumour-formation and death in a short space of time. Young pigs are susceptible to inoculations of virulent pus. Abscesses are formed which either remain shut and hard or ulcerate, voiding a fetid, viscous, yellowish pus. Ten or twelve days afterwards the sucklings may die, after having shown emaciaciation and weakness. The animals may show purulent and, at times, hæmorrhagic metastases.

Post-mortem examination may reveal effusions in the pericardium and congestions in the kidneys and liver.

There may be purulent nephritis. Subcutaneous inoculation may be the starting point for all the forms of the disease, acute and chronic, with the characters already described.

Digestive and epidermal administration did not give any result. A calf, proved to be susceptible when later inoculated subcutaneously with pus, was made to swallow large quantities of virulent pus without any result. On another calf, also susceptible as was proved later by subcutaneous inoculation, the back was scraped with a rasor, after the fur had been removed, until slightly excoriated, and recently collected pus rubbed on this surface. This method was also ineffective, although it is known to give such good results, for instance, in human plague.

The pus does not harbour the virus indefinitely either. There are times when all methods of inoculation will prove unsuccessful. This is because the virus has disappeared from the pus. The bacteria that have been described, including the bacilli of the VRYBURG type, are however still alive.

This fact is made evident in the case of Ox D. At first pus from this animal was undoubtedly virulent. Later this virulence disappeared and great quantities of pus inoculated intravenously and subcutaneouly in suspectible calves would not give the slightest result. Inoculations on ordinary culture-media would give cultures of the bacteria described, including bacilli of the VRYBURG type. In these cases, local abscesses might be obtained but not *peste dos polmões*. This is another proof which goes against the supposition that bacilli of the VRYBURG type were the etiological cause of the disease. Not only these, but all the bacteria that could be seen and cultivated from the pus were thus excluded. There experiments also confirm an already made observation, i. e. that direct contagion does not take place in the absence of ticks, except, perhaps, in the intestinal form. It does not make any difference if the healthy animals lived together with those affected with chronic forms, cutaneous, ulcerated or toxics modalities. If there is any contagion it must be very discrete. Experimentally I was not able to obtain it. In fact, these unsuccessful experiments led me to search for a means of transmission outside the animal.

The triturated viscera (heart, liver, spleen, kidneys and lungs) like the pus are certainly able to infect a healthy calf, reproducing the disease (cf. graphics 62, 67, 70). Fæces reproduce the intestinal form.

This is not at all surprising, considering that the viscera show extensive lesions as result of the disease. There was every probability of the virus being present in these organs. With inoculations of blood, things were different. Out of a hundred inoculation of blood, taken when the disease was well established and fever present, 34 gave positive results.

I do not know if more extensive and prolonged experiments may still modify this assertion. Calf. nº. 38 (cf. also nº. 75), inoculated with defibrinated blood from another calf suffering from the natural disease, chronic form, cutaneous modality ,died with the chronic form, toxic modality. There are no important differences (not to say that there are none) between defibrinated and ordinary blood.

Of course if defibrination is done according to the rules, there is even advantage in its being done.

A certain amount of blood has to be injected to obtain a better result.

Healthy animals, in contact with the diseased, in perfectly clean stables, during a long time, did not contract the disease. This observation was later extended. If in clean stables, contagion is difficult, it is extremely easy in the fields. Why? The panzootic of 1919 brou-

ght light to bear on many points of this problem. It has already been seen that of the ways of inoculation the subcutaneous is one of the best. Transmission through the digestive tract or the epidermis is difficult if not impossible, at any rate in certain modalities of the disease. The virus is present in the pus, viscera and blood as well as in the fæces. But ulceration of the *polmões* and the consequent voiding of infective pus is however belated.

This ulceration is even limited to the advanced stages of the disease. It would consequently be a slow method of transmission, while in a herd many animals get ill at once. Therefore this does not seem a likely process, and the following fact still corroborates this way of thinking. Pus which has been virulent quickly loses its infective power in glycerin. This is a rule which holds for many filterable virus. It is therefore a weak virus. The fact is that the same thing already happens with dried pus and fæces, under laboratory conditions.

Might these be the same as in the fields? Losses of blood have not been observed often, either from the pelvic organs or from the nostrils. Besides the lesions of the respiratory apparatus are are a further development of the ldisease in cattle. They are belated consequences of the disease. These were the reasons why I was brought to search for a host, outside the cattle, and able to transmit the disease to cattle and maintain the virus alive. The conditions were found in ticks (52, 53, 54).

Studying the ticks of the infected region I found: superfamily IXODOIDEA, subfamily IXODINAE, family ARGASIDAE, genus ARGAS (LATREILLE, 1796) species PERSICUS, inhabiting chicken-yeards but containing no spirochætes; family IXODIDAE, genus BOOPHILUS (CURTISS, 1890), species MICROPLUS, mostly infesting cattle; in the same family the genus RHIPICEPHALUS (C. L. KOCH 1884), species SANGUINEUS, parasiting also cattle; in the same family, genus AMBLYOMMA (C. L. KOCH 1844), species CAJENNENSE also on cattle.

I was able to prove that the most common ticks of the region of Minas Geraes, in which *Peste dos Polmões* was spread Amblyomma cajannense and Boophilus microplus are infectious for healthy cattle. They may harbour the virus of the disease. There is no object in repeating hear the history of these ticks.

Experiments on the subject are being carried out and will continue for sometime so as clear up this subject completely.

The following indications may be given.

The disease is reproduced with certainty by inoculating under the skin of a healthy calf an emulsion obtained by triturating in a mortar together with saline solution some ticks taken from diseased cattle. Needless to say both mortar and saline solution are previously sterilised. These experiments have to be made with all precautions so as to avoid misinterpretation.

The inoculations of triturated ticks might for instance transmit other diseases enzootic in the fields and also able to bring about death.

Consequently calves born and bred in this country with at most 1 year of age were selected: These calves had been living in the pasture without any special precaution. They remained under observation in the laboratory for a long time before inoculation.

The emulsions of triturated ticks were tested for different micro-organisms. Those isolated were identified. The test of filtering the emulsion through BERKEFELD filters and reproducing the disease with the filtered emulsion, the most important test of all in my epi-

nion, was carried out. Positive results were obtained in 99 % of cases.

These experiments are of great interest chiefly on account of the symptoms shown by inoculated animals. The calves died with evident signs of *peste dos polmões*.

The length of time the disease lasted was mostly that commonly occurring in the natural disease. Some of the animals died with the cutaneous some with the toxic modality and so forth.

The reports of autopsies, temperature charts, the photographs printed are more demonstrative than any description of details.

They confirm what has been asserted. Such is for instance the case of ox n. 14 that had the typical disease and died after 48 days of the evolution of the disease.

After a certain period of evolution the temperature rose and remained high during many days. It showed the characteristic oscillations and fell slowly to normal. Five days before death it sank below the normal. The calf showed typical polmões, emaciation and unwillingness to eat. Post-mortem examination showed effusion in the serous membranes, congestions of the lungs etc. From the pus of the polmões of this calf I isolated besides «Diplococcus polmonis» and a Gram-positive bacillus, the bacillus of the VRYBURG type, that gave the highest titre of agglutination. This bacillus was agglutinated by the serum of calf n. 14 (the same animal from which it had been isolated) at 1:640 and at 1:640 by the serum of normal cattle.

Agglutination was obtained also with the serum of the ox which had furnished the ticks, at 1:1280.

This bacillus proved to be devoid of virulence for healthy calves. A suspension of the bacilli grown in 24 hours on a tube of slanting agar at 37°C. in 20 c. c. of saline solution were tolerated with impunity. In the rabbit however the already described syndrome could be obtained. Pus from these polmões was infectious. Inoculating small quantities of it in rabbits I obtained the clinical picture already described some pages before.

The serum of calf 14 agglutinated also at 1:160 a bacillus, worth considering although it did not have the characters of those of the VRYBURG type and isolated from the triturated infectious ticks.

Calf. n. 61 is another typical instance of the experimental reproduction of the disease by inoculation of triturated ticks (cf. charts and photographs).

This animal had the disease with all the characters of the chronic form. cutaneous modality. Typical emaciation, fever, diarrhœa, tumor at joints of limbs and so forth. Very much more interesting than these, however, is the case of calf n. 59, inoculated with an emulsion of ticks, PASSED THROUGH A BERKEFELD FILTER. The ticks had been taken from calf n. 56 suffering from the natural disease, chronic form, cutaneous modality. After a short period of incubation fever rose to its climax (41°9C.). The animal became thin and showed typical *polmões* disseminated over the body (photograph n. 6).

The suspensions obtained after triturating the ticks were examined as to the various bacteria which they might contain.

Direct examination in smear preparations stained with GIEMSA, GRAM etc, showed different cocci. bacilli, elements evidently belonging to fungi etc.

Cultural examination gave the following results:

3) 1 Bacillus . . . . . GRAM-negative.
Very motile.
Larger than those of the VRYBURG type.
Bi-polar stain.

Coccus . . . . . Staphylococcus
Diplococcus.

2) 1 Bacillus . . . . . GRAM-negative.
Vacuolised.
Slightly motile? (Lateral motility?)

These two bacilli were not agglutinated by the serum of diseased cattle.

Normal ox serum agglutinated the second of them up to 1/80.

Cultures of the bacillus I shall call 2 were small and translucent; there was slight development in 48 hours in the incubator at 37°C.

The bacillus I shall allude to as 3 was not pathogenic as regards calves, did not agglutinate when mixed with serum of the diseased animals and was pathogenic for rabbits in which it produced the same sort of syndrome as the bacilli of VRYBURG's type.

The following are some of the cultural features of the bacillus:

Potato	Brilliant white culture, dull, thick abundant, clouding rather the water of the tube.
Milk	Coagulated, evil-smelling in 48 hours.
Sabouraud	Abundant, fetid, dirty white in 48 hours.
Broth	Homogenous clouding, evil-smelling, dense pellicle on surface in 48 hours.
Coagulated horse-serum	Abundant, dirty white fetid culture. The serum is dissolved in 48 hours.
Endo medium	Becomes red in 48 hours.
Gelatin	Dissolves in 24 hours. In 21 days the whole tube is dissolved.
Peptone-Water	Abundant growth. Homogeneous clouding of medium.
Indol	Present after 15 days growth.

The length of time ticks remain infectious is limited.

Ticks kept for 72 hours in the laboratory, at an average temperature of 28°C., from the time of being collected were still able to reproduce the disease, when triturated in sterilised saline solution and inoculated in healthy calves.

After 15 days' stay in the laboratory this is no longer possible. There is no evolution of the micro-organism in the intermediary host. Immediately after they

have been picked off sick animals the ticks are infectious.

Larvæ from infectious ticks are not able to reproduce the disease. Might these larvæ, raised outside the contaminating medium (with rabbits' blood, for instance) become infectious, upon attaining maturity?

This is a point that must still be elucidated.

The disappearance of the epizootic obliged me to interrupt the experiments planned with a view to obtaining a better knowledge of this subject.

IMMUNITY.

This is a subject not yet gone into as fully as it should be, on account of the complexity of the work undertaken and the need for attention to other chapters.

Possibly with time much may be brought forward for publication. But even at the present time there are some indications that may be given.

Natural immunity does not appear to exist except in rather rare instances. At first I had accepted the current opinion that the disease was one of calves only, and that adult animals enjoyed a considerable degree of immunity.

Afterwards I ascertained that this is not the case. The panzootic of 1919 gave me positive proofs to the contrary and subsequent observation only confirmed this evidence.

Peste dos polmões does not respect age, sex or even race.

From the new-born calf to the huge old draught-ox all may be thrown into a state of extreme emaciation and death..

Cows and bullocks equally fall victims.

The different breeds (CARACÚ, SERTANEJO, HEREFORD, DUTCH and even ZEBU) are affected and killed without any distinction. Outside the panzootics the disease would appear to have a predilection for calves.

But this is merely an illusion. In the first place, when a careful search is made in the centers of disease, even outside the time of epizootics, let alone of panzootics, cattle is found with more or less masked forms of the disease. In the first place the cattle of a farm has usually suffered from an attack of the disease, when young. These attacks of the virus, when they do not kill, confer a lasting immunity. Naturally the animals being born evey year in farms in which the production of milk is the most important thing and where there is little change in the cattle, appear to be preferred by the disease.

The question of fodder must also not be taken in consideration. It would be enough to quote the case of the Fazenda de S. Alda, belonging to Dr. JOAO TEIXEIRA SOARES, in which the best in quality and quantity is used.

In other regions also, I saw that the animals at liberty and shut up were equally affected. Those who know anything about the habits of the country will not ignore that the former roam about without the slightest care being dispensed to them. The owner only knows of them by hearsay. The latter, on the contrary live near the farms and are brought to their mangers every evening to eat rations of salt, or salt and indian corn, or of ground indian corn and sugar-cane.

They are mostly used for drawing carts.

On the experimental animals used, the same could be seen, They were fed on bran, indian corn and fodder.

In spite of this, when inoculations were sufficient and virulent, choice and careful food were of no avail.

Inoculations of material passed through BERKEFELD filters, in healthy calves which give a febrile reaction, preserves these animals against a subsequent inoculations of pus or of triturated virulent ticks (cf. graphic N. 55).

Inoculations of bacilli of the VRYBURG type, even when they produce small abscesses do not immunise calves, for instance, against a subsequent inoculation of virulent pus.

Great quantities of virulent pus taken per os do not confer any immunity. Sera prepared with bacilli of the VRYBURG type, have a very slight influence on *peste dos polmões*. Serum prepared with the aid of intravenous injections of diluted pus, triturated viscera and ticks of animals with the natural or experimental disease have a decidedly benefic action on the course of the disease.

The disease is found equally on lowlands and plateaux. But I must mention the information obtained at one of the centers of the last panzootic.

The uruguayan owners of the farms along the Curumatahy river, and which extend over the range known as Serra do Cabral, between the Stations Beltrão and Francisco Sá on the Central Raiway of Brazil and the Buenopolis Branch (at a little more than a thousand metres above sea level in the State of Minas Geraes), told me that the cattle taken up to farms at the top of the range overstood the panzootic gust with impunity, whereas the animals that were left in the flat country or in the fringes of the range all died. They also said that ticks were not plentyful at on the high parts of the mountain. Pasture is always green at these points, although native and not very nourishing. Running water is abundant. These informations are reproduced on account of the source from which they were obtained. The people we have mentioned are very progressive and own great herds of cattle.

But it is well to point out that the disease is known on the plateaux of the State of Paraná.

DIAGNOSIS.

The diagnosis of *peste dos polmões* can be made with a certain ease only in one of the modalities of the chronic form of the disease, i. e. the cutaneous.

In the acute form it is very difficult. At times of epizootics the research-worker may yet be guided by the information obtained.

Subsequent inoculations often make the diagnosis clear.

The history of the disease in the acute form is not considerable. The rapid development of the disease prevents the observer from obtaining sufficient facts. Many hypotheses are weighed until macroscopical and microscopic pathological examination and experiments have ruled out symptomatic anthrax and anthrax proper, piroplasmosis, rabies and so forth.

The same difficulty is encountered in the case of the chronic, benignant forms.

But here, the appearancce of a rare polmão may throw a flood of light upon the diagnosis.

Of the chronic severe chronic forms, the easiest to diagnose is the cutaneous, as has already been said before. Anyone who has once seen cattle attacked by this form will not forget it again. The photographs and descriptions given dispense further explanation.

Examination of pus is important, principally for differential diagnosis.

Pus for this purpose must be taken from closed polmões with all possible precautions (shaving off the fur, applying tincture of iodine etc).

The material may be taken up with a sterilised syringe. I always prefer, for this purpose, pipetses drawn out in the blow-pipe and sterilised at 120°C., during 20 minutes in the autoclave.

Thin smears were submitted to direct examination, after stainind with

GIEMSA, GRAM, LEISHMAN, FUCHSIN, TRIBONDEAU-FONTANA, ZIEHL-NEELSEN etc.

After that, different inoculations were made (guinea-pigs and rabbits).

Examination of the pus in shows that pus is never devoid of microbes even when it is held by a thick fibrous sheath beneath the skin.

No acid-fast bacilli were found, nor the typical elements described by NOCARD in a farcy-like disease of cattle. At times rod-shaped elements which were placed in the Streptothrix type in the chapter on the microbiology of the disease.,

The bacillus of LIGNIERES and SPITZ, with its characteristic appearance like that of actinomyces, was not seen either.

All search after protozoa in these smears is useless.

There is generally no predomination of a given micro-organism. GRAM-positive and negative organisms are seen; bacilli and cocci of different sizes and aspects. Cultures determine the species.

The pus has a great many polynuclear neutrophiles. The differential count is difficult, because even in recent tumours the dissolution of leucocytes is well under way. It is usually hard to recognise the different kinds of leucocytes.

But I was able to establish the following formule for the pus:

NEUTROPHILES.....	77 o/o
SMALL LYMPHOCYTES...	2 o/o
LARGE LYMPHOCYTES...	18 o/o
TRANSITIONAL FORMS...	3 o/o

One of the best stains for smear preparations of pus is according to GRAM: This way positive and negative bacilli may be distinguished and at the same time the rod shaped elements that have just been mentioned are made evident (all the fungi-group stains by this process).

These rod-shaped elements have the same sort of appearance as those of the cultures of *Streptothrix pulmoneum*. They are V-shaped rods, in which one of the limbs is shorter and at a more open angle. The pus was inoculated in guinea-pigs, rabbits and calves.

For all these reasons the following were ruled out: caseous pseudo-tuberculosis, bacillus of BRIDÉ-SIVORI, of COZZOLINO, B. pyocyaneus of cattle, the microbes of PREIZ-NOCARD, of CARRÉ, of LIGNIÈRES and SPITZ etc.

By cultures, inoculations and smear-preparations the micro-organisms already described in their order of frequency were found.

The disease of LIGNIÈRES and SPITZ is worth mentioning, I was able to read the very interesting original work of these writers. As it is a South-American disease the interest is even greater from our point of view.

The ætiological agent of the disease is a small bacillus isolated by the argentine writers, and that has some points in common with the bacilli of the VRYBURG type.

It is small and GRAM-negative. Its arrangement into granules like those of actinomyces in the tumours, justifies the name given and at the same time separates them from the bacilli of the VRYBURG type.

The pus is found full of granules. The disease is not only cutaneous but also affects the bone, tongue and so forth. Direct inoculation of pus into culture media does not give any result. The material has to be previously triturated before the bacilli will grow in the culture media. In coagulated serum the growth is very scanty. The bacillus is very virulent for guinea-pigs, whereas rabbits are considerably less susceptible. Isolated bacilli have a length of 1.25 to 1.50 micron. The agglomerations are much larger and have a radiate appearance.

Consequently there is no possibility of confusion with *peste dos polmões*, provided a certain care be used in the examination.

The diagnosis of the cutaneous modality is not always patent. In cases in which the cutaneous or external manifestations are scanty and the visceral or internal considerable, the examination for symptoms and lesions should be corroborated by all laboratory evidence that observation may call for.

Pathological observation is a help in diagnosis.

As to the diagnosis of the chronic form, intestinal modality, it may be made clear by the presence of one or another polmão. The information as regards epizootics must not be forgotten. This appears to me one of the most interesting parts of animal pathology in this country. There are diarrhœas and not a diarrhœa of cattle.

The arguments attributing to a disease one sole symptoms for its support have never appeared to me sould.

At most one symptom may predominate.

A great number of cattle-diseases produces diarrhœa of varying intensity and appearance. It would be wearisome to repeat here well-known facts. It is a mistake therefore to assert that every diarrhœa of calves is what is conventionally called PNEUMOENTERITIS:

Now to say that in a given clinical entity there are forms the chief symptom of which is diarrhœa, or cutaneous abscess, or simply wasting, and thus to create different modalities of the disease is quite another thing.

The Observation Post and Veterinary School of Belo Horizonte have already been called upon for treatment of epizootics of diarrhœa of calves (pneumoenteritis), which were nothing but very fine instances of *peste dos polmões*.

This is the point os view that has been followed in the clinical study of *peste dos polmões*. The modalities shown are based on symptoms which appear separately or together.

The habit of attributing a disease only one symptom is unfortunately widespread.

It has been said for instance that chicken-cholera is characterised by diarrhœa, when the diphtheria of chicken, «bouba» (which is the same thing according to some), a bacillus that I have studied, chicken-spirochætosis produce the very same symptom. And in some cases they bring forth no other symptom.

The intestinal modality of *peste dos polmões* is very much disseminated among calves in some foci. Save in some cases in which one or another *polmão* is found, I do not know how to distingush it clinically from other diarrhœas. It also attacks adult cattle. It is true that in the so-called pneumoenteritis, (chiefly on account of German writers) blood examinations elucidate the diagnosis. In any case experimentation (cultures, inoculations etc.) should be resorted to.

I do not wish to end up this chapter, however, without adding what will be part of another one further on, i. e., the splendid action of serum prepared against *peste dos polmões* on pure cases of the so-called diarrhœa of calves.

The diagnosis of the toxic modality is less difficult. When wasting has set in this is characteristic and I know of no other disease which produces greater emaciation.

When there are still vestiges of some old polmão, or even when there is some polmão to be seen, diagnosis is easy. Information from the person who has tended the animal is of great value.

The tuberculin-test may be made so as to exclude tuberculosis. Examinations of the blood, of the saliva, and, nowa-

days, already of the urine may exclude other causes of error, such as pernicious anaemia, rabies, and may corfirm the renal lesions.

In the last instance the pathological study of the case will decide the question, by excluding or not tuberculosis, malignant tumours, mycoses etc.

PROGNOSIS.

In *peste dos polmões* the outlook is always bad, except in certain chronic cases.

It has already been seen that the mortality may attain 99-100 % of cases.

Between the epizootic waves it may be of 10 %.

In the case of a new-born calf or of one of 2 or 3 months the prognosis cannot be the same as for an adult animal. All the clinical symptoms must be weighed. After the use of the specific serum the mortality came down to 0,6 % of the total of 511 well observed inoculations. The earlier the treatment the better the results. The use of serum in extreme cases (just as a laboratory investigation) has come up to our expectation.

PROPHYLAXIS.

The prevention of *peste dos polmões* calls for several measures to be taken.

In the first place, the preparation and employment on a large scale of material for vaccination. In the second the destruction of ticks. Preventive and curative vaccination avoids the spreading of the virus. When large herds are passing through a place it would be advisable to select the suspicious cattle which would remain under observation.

If there were evident cases the whole herd would be prevented from staying until the suspect cases had been attended to and the remainder vaccinated.

TREATMENT.

The treatment of *peste dos polmões* was still awaiting elucidation up to now.

Profs. HENRIQUE MARQUES LISBOA and EZEQUIEL DIAS when mentioning this in 1912 said: «In the matter of Therapeutics everything is left to be done».

And this was really the state of the matter.

VRYBURG in the form of the disease he described (v. op. cit.) throught that active vaccination, with the cultures he isolated, was possible, vaccination and combined serum-vaccination.

He also found Potassium Iodid to be fruitless in this disease. Incision of abscesses without any further medication was altogether insufficient. This operation aided specific treatment; it did not cure.

VRYBURG does not bring enough statistical evidence. It must be borne in mind that VRYBURG's disease has many points of contact with the one that is being studied. These are so far-reaching that I would propose as a synonym of *peste dos polmões* VRYBURG's DISEASE.

There are many points, however, in which they diverge widely. Might this be simply a question of adaptation, of climate?

Vaccination attempted with bacilli of the VRYBURG type did not give any results worth mentioning in practice. I have in view many processes of immunisation active or mixed. These will be reported later with more leisure and more experience.

Passive immunisation with the aid of a serum obtained by inoculation of triturated viscera, pus and blood. gave magnificient results.

To these antigens, once and again triturated ticks from diseased animals would be added.

The animals used in the preparation of serum were large oxen whose immunity, acquired or natural, was a guarantee for the undertaking.

Acquired immunity would be obtained by intravenous inoculation of attenuated virus or virus and specific serum, in a similar way to what has been done against Rinderpest in Africa, and swine-plague in this country.

The specific serum was used in doses varying from 20 to 100 c. c. according to the size of the animal and the severity of the disease.

The following well ascertained cases may be brought forward:

516 — — — — Total number of cases treated.
177 — — — — Toxic Form.
339 — — — — { Cutaneous. / Intestinal.

I must point out that the number of cases of the chronic form, intestinal modality, was very much less considerable than that of the cutaneous.

Of the 516 animals treated, 3 died. The mortality has thus been brought down to about 0.6 %. The percentage deaths had been of 100, 95, 50 and 10 % according to the season of epizootics or of none and according to the region considered.

In the last panzootic the percentage of deaths I observed was, as has already been mentioned, of between 100 and 95. It was during the course of this that the serum was used.

ADDENDUM.

The preparation of serum was easy since the preservation of virus in the laboratory was easy. The preparation of antigens was made in the following way.

Pus. The hide was shaved and disinfected with the same care as if it to obtain material for inoculating culture media. The pus was received in a sterilised mortar, triturated with 8.5 % saline solution which had been previously sterilised at 120°C., during 20 minutes in an autoclave. Trituration was continued until a homogeneous suspension had been obtained. The pus was diluted in pus at the rate of 1:30 or more, according to whether a mixture with a slightly milky appearance was desired. The material was previously filtered through a tight metal sieve so that no particle could be seen in suspension in the liquid with the maked eye. This material was phenicated (0.5 %) or not.

The product obtained was inoculated intravenously.

Viscera. As soon as a calf or ox died the principal viscera were removed; liver, kidneys, spleen and heart were used whereas the lungs were left aside on account of their frequent contamination by commonplace germs (cf. chapter on microbiology).

They were subjected to the same process of preparation as the pus.—Injections were made in the veins or under the skin. Blood was taken from the veins of the diseased animals with the trocarts commonly used sterilised, with their rubber tubing, and received in a vessel containing sodium citrate or glass pearls for defibrination. Injection of blood was usually subcutaneous.

TICKS. They were taken, thoroughly washed in sterilised saline solution and then triturated in a mortar like the pus.

The susupension was diluted at 1:10.

All these antigens were subjected to previous examination and inoculation in culture media.

NOTE.

This article was already being printed when these experiments were concluded.

Although we had already transformed cases of *peste dos polmões* in cases of pneumo-enteritis, there remained one proof to be made, the last of all, the transformation of a «curso» or classic pure

pneumo-enteritis (chronic form, intestinal modality) in *peste dos polmões* proper (chronic form, cutaneous modality).

This has been obtained now, starting out from infectious material of pure cases of pneumo-enteritis, already previously experimented with, with numerous positive results. *Peste dos polmões* thus obtained was maintained in series. The photographs of these last experiments could no longer be included in this work.

I must also refer to the internal *polmões*, already spoken of before. Instead of finding *polmões* only in the lung-tissue, others were seen in other parts of the body. Some were protruding into the peritoneal cavity, covered by the parietal peritoneum, and with all the characters of the cutaneous.

I must tender thanks to Dr. CARLOS CHAGAS for the hospitality of these columns.

To Dr. HENRIQUE MARQUES LISBOA I acknowledge my indebtedness for his aid: he did not only make all experiments feasible; he interested himself in their carrying out; and gave counsel on a subject familiar to him. But for him it would not have been possible to make use of so many animals of a high cost (oxen, calves, cows, sheep).

I must thank Mr. OCTAVIO M. LISBOA for some micro-photographs that are reproduced.

Our assistant Mr. PEDRO CH. BICALHO is also entitled to gratefulness for his help in making this work.

PROTOCOLS:

Mottled Calf.

		Already immunised against peste dos polmões by inoculation of virus kept in glycerin and killed.
1rst.	inoculation.....	20 c. c. of a suspension of viscera and fluids from serous cavities of an ox died of the cutaneous modality. Intramuscular injection Aug. 25. 1919.
2nd.	«	50 c. c. of a suspension of ticks taken from diseased cattle.... Intravenous inj. 30 cc. Aug. 27. 1919. Intramuscular inj. 20 cc. Aug. 27. 1913.
3rd.	«	10 c. c. a suspension of ticks. Subcutaneous injection. Sept. 1. 1919.
4th.	«	60 c. c. of a suspension of ticks. Intravenous injection.. Sep. 4. 1919.
5th.	«	40 c. c. of a suspension of virulent viscera. Intravenous injection... Sep. 6. 1919.
6th.	«	100 c. c. of a suspension of viscera with 0.5 o/o phenol. Intravenous injection. Sep. 10. 1919.
7th.	«	250 c. c of a suspension of viscera with 0.5 o/o phenol. Intravenous injection. Sep. 18. 1919.
8th.	«	320 c. c. of a suspension of viscera with 0.5 % phenol. Intravenous injection. Sep. 20. 1919.
9th.	«	180 c. c. of a suspension of viscera without phenol. Intravenous injection. Sep. 27. 1919.
10th.	«	200 c. c. of a suspension of viscera without phenol. Intravenous injection.. Oct. 1. 1919.
	.....	3500 grms. Blood drawn..... Oct. 6. 1919.

11th. inoculation..... 1000 c. c. of citrated blood from diseased cattle.
Subcutaneous injection. Oct. 8. 1919.
..... 3500 grs. Blood drawn..... Oct. 23. 1919.
12th. « ..... Inoculation of 250 c. c. equal parts of blood and pus.
Intravenous injection. Oct. 24. 1919.
Found dead next morning. Postmortem examination showed lemon-coloured effusion in peritoneum. Intense congestion of lungs and kidneys.

Oxen ns. 10 X, 11 X, 13 X.

These were oxen of large size; they had had the disease and recovered from it.

1rst. inoculation.....	Total 100 c. c. equal parts	Blood. Pus..... Viscera.	Intravenous injection....	Dec. 5. 1919.
2nd. inoculation.....	200 c. c. equal p.	Blood. Pus..... Viscera.	Intravenous inj.....	Dec. 1. 1919.
3rd. inoculation.....	500 c. c. equal p.	Blood. Pus..... Viscera.	Intravenous inj.....	Dec. 14. 1919.
4th. inoculation.....	100 c. c. equal p.	Blood. Pus..... Viscera.	Intravenous inj.....	Dec. 14. 1919.
5th. inoculation.....	1500 c. c. equal p.	Blood. Pus..... Viscera.	Intravenous inj.....	Dec. 25. 1919.

Four litres of blood were drawn from each of the animals 12 days after the last inoculation. Some of them reacted considerably after the inoculations, specially the last ones.

As is to be seen, equal parts of blood, pus and viscera were injected, in progressive amounts. Injections were made slowly and at the least sign of dyspnœa or agitation the needle was withdrawn from the vein.

Horse X 3.

(Serum against bacilli of the VRYBURG type).

1rst. inoculation..... 2 cc. of a suspension in saline of a 24 hours agar culture of bacilli of the VRYBURG type killed by heating during half an hour. Intramuscular injection in the left quarter, Sep. 17. 1917.

Note: Shortly afterwards the animal became restless, sad and refused to eat. A few days later it had recovered.

2nd. Inoculation. . . . . 2 cc. of a mixed suspension (1 loopful of 4 cultures and 6 c. c. of saline), killed at 60°C. during 5 minutes. Intravenous, Sep. 22. 1917.

3rd. Inoculation. . . . . 4 c. c. of a suspension similar to that of no. 2. Intravenous injection, Sep. 25. 1917.

4th. Inoculation. . . . . Inoculated with a suspension similar to that of no. 2, 6 c. c. in the vein. Sep. 28. 1917.

5th. Inoculation. . . . . Do., Do., Oct. 1. 1917. 12 c. c.

6th. Inoculation. . . . . Inoculation with a similar suspension of LIVE bacilli, intravenous, Oct. 5. 1917 2. c. c.

7th. Inoculation. . . . . Inoculated with 4 c. c. of a similar suspension of live bacilli, Oct. 8. 1917.

8th. Inoculation. . . . . Inoculated with 8 c. c. of a suspension as in no. 7. Oct. 12. 1917.

9th. Inoculation. . . . . Inoculated with 16 c. c. of suspension as in n. 7. Oct. 20. 1917.

10th. Inoculation. . . . . Four litres of blood withdrawn, Oct. 25. 1917.

11th. Inoculation. . . . . Inoculated with 32 c. c. of a mixed, live and concentrated suspension injected intravenously. The suspension was prepared in the following way: Bacilli were inoculated on the surface of ROUX flasks, which were then left in the incubator at 37°C. for 24 hours. The contents of about 2 flasks were used. Oct. 30th. 1917.

12th. Inoculation. . . . . Inoculated with 25 c. c. of suspension as in no. 11. Nov. 13. 1917.

13th. Inoculation. . . . . Inoculated with 12 c. c. of suspension as in no. 11. Nov. 22. 1917.

14th. Inoculation. . . . . Inoculated with 14 c. c. of suspension as in no. 11. Dec. 6. 1917.

15th. Inoculation . . . . . 2500 grms. of blood withdrawn, Dec. 15. 1917.

16th. Inoculation. . . . . Inoculated with 12 c. c. of a live suspension from a ROUX flask. Intravenous injection. Dec. 22. 1917.

17th. Inoculation. . . . . Inoculated with 14 c. c. as in no. 16. Dec. 26. 1917.

18th. Inoculation. . . . . 2500 grms. of blood withdrawn, Dec. 28. 1917.

19th. Inoculation. . . . . Inoculated with 12 c. c. as in no. 11. Dec. 28. 1917.

Note. Two minutes after inoculation the animal appeared to be giddy and unsteady. It walked as if intoxicated. Head lowered. This state lasted about 5 minutes. 24. hours later it was perfectly fit again.

20th. Inoculation. . . . . Inoculation of a mixed suspension rich in live bacilli from the surfaces of two ROUX flasks. 24 hours' culture at 37°C. in the incubator.

Subcutaneous injection (Right shoulder) Jan. 8. 1918

Note: At the site of inoculation there was considerable tumor formation. The animal became unable to walk. It recovered with ease.

21rst. Inoculation. . . . . Inoculated with 12 c. c. Intravenous inject. 5 c. c. Subcutaneous 7 c. c. Jan. 22. 1918.

Note. There was the same reaction at the site of inoculation as in no. 20.

22nd. Inoculation..... Inoculated with 10 c. c. Intravenous injection. Feb. 13. 1918.

23rs. Inoculation..... 3 litres of blood withdrawn. Feb. 18. 1918.

24th. Inoculation..... Inoculated with 10 c. c. as in no. 11.
Intravenous injection.
Note: There was neither fever nor lack of appetite. March. 2. 1918.

25ih. Inoculation..... 3500 grams of blood withdrawn. March 2. 1918.

26th. Inoculation..... Inoculated with 10 c. c. as in no, 2. March 22. 1918.

27th. Inoculation..... Inoculated with 10 c. c. as in no. 2 April 4.1918 (at 4.30 p. m.).
Note: Immediately after inoculation the animal showed nothing worth mentioning. It ate its ration quite well. It fell, not to rise any more, at 9 p. m. Death during the night. Post-mortem showed: Nephritis on both sides, very marked at right. Right pyelonephritis.

It must be mentioned that the varying quantities of suspensions inoculated do not mean different numbers of bacilli injected. The same technic was repeated in all cases.

Surface cultures on agar, simple or with glycerin, 24 or 48 hours in the incubator a 37° C. The amount of saline added in each case was what varied.

Calf A 2.

(Serum against bacilli of the VRYBURG type).

1rst. Inoculation..... Intra-venous inoculation of 4 c. c. of a suspension in saline solution of mixed, killed bacilli, of the VRYBURG type. Sep. 22. 1917. The suspension was of 4 strains grown on slanting agar in 36 hours in the incubator at 37°C.

2nd. Inoculation..... Inoculated with 4 c. c. of the same suspension as in no. 1, applied in the same way. Sep. 25. 1917.

3rd. Inoculation..... Inoculated with 4 c. c. Sep. 28. 1917.

4th. Inoculation..... 8 c. c. inoculated, Oct. 1. 1917.

5th. Inoculation..... 5 c. c. of LIVE suspension inoculated, otherwise as in no. 1.

6th. Inoculation..... 4 c. c. of LIVE suspension. Oct. 8. 1817.

7th. Inoculation..... 8 c. c. of LIVE suspension. Oct. 11. 1917.

8th. Inoculation..... 16 c. c. of LIVE suspension. Oct. 20. 1917.

9th. Inoculation..... 16 c. c. of LIVE suspension. Oct. 30. 1917.

10th. Inoculation..... 11 c. c. of a suspension of bacilli of the VRYBURG type grown on three tubes of slanting agar in 36 hours at 37°C. Bacilli alive.

11th. Inoculation..... 12 c. c. of a suspension in 8.5 °/oo saline solution of streak colonies of two ROUX flasks (glycerin-agar) left for 36 hours in the incubator at 37°C.
Intravenous injection of live bacilli.

12th. Inoculation..... About 500 c. c. of blood were withdrawn for experiments on Nov. 24. 1917.

13th. Inoculation..... 10 c. c. applied as in no. 2. Dec. 6. 1917.

14th. Inoculation..... In view of result of experiments with the small quantity previously taken, 3 litres of blood were withdrawn.

14th, Inoculation..... 10 c. c. of suspension inoculated as in no. 2. Dec, 28. 1918.

15th. Inoculation..... 24 c. c. of suspension as in no. 2 Jan. 8. 1918.

16th. Inoculation..... 15 c. c. { 5 c. c. by intravenous injection. 10 c. c. by subcutaneous injection.

Suspension in saline solution of LIVE bacilli of 4 strains grown on two ROUX flasks.

Note: Alarming symptoms at once. Rapid recovery. Jan. 22. 1918.

15th. Inoculation ..... 10 c, c. of a rich, mixed, live suspension in saline solution of 4 strains of bacilli grown on slanting agar in 36 hours at 37°C. Intravenous injection. March. 1. 1918.

Note. Alarming symptoms shown immediately. Tremor, intense Dyspnœa, sweating, Convulsions. Temp. 40°C. in rectum. Left off eating raction. Shrinking together so-to-say in hours.

Died on March 3, 1918. Double nephritis. One of the kidneys had the appearance of chicken fat.

Calf A 3.

(Serum against bacilli of the VRYBURG type).

1rst. Inoculation..... 4 c. c. of a rich mixed, live suspension of 5 strains of bacilli grown on slanting agar in 36 hours in the incubator at 37°C.

Intramuscular injection. March 23. 1918.

2nd. Inoculation..... 2 c. c. of LIVE suspension, as in no. 1. April. 4. 1918.

3rd. Inoculation..... 4 c. c. of LIVE suspension inoculated intravenously April 22. 1918.

4th. Inoculation..... 8 c. c. of LIVE suspension by intravenous injection, April 26. 1918.

Note. The animal is very thin.

5th. Inoculation..... 6 c. c. of Live suspension by intravenous injection. May 31rst. 1918.

Found dead June. 1. 1918. Bacillus of the VRYBURG type isolated from heart.

Horse N. X. 4.

(Serum against bacilli of VRYBURG type).

1rst. Inoculation..... 4 c. c. of a rich, mixed, killed suspension of 4 types of bacilli by intramuscular injection. Suspension made with. 0.85 % saline and previously sterilised. May 21. 1918.

Note. Considerable œdema, not only of the site of inoculation, also of the whole leg corresponding to shoulder on which inoculation was made. The animal was unable to lift its leg. It could only drag it along. There was abscess formation, with prolongued suppuration and an evil-smelling watery pus.

2nd. Inoculation..... 10 c. c. inoculated as in no. 1, June 1st. 1918.
Slight tumour-formation locally.

3rd. Inoculation..... 10 c. c. of a LIVE suspension of 8 strains of bacilli of the VRYBURG type by subcutaneous injection.
Surface cultures on glycerin agar (inoculation of condensation-water and spreading of this over surface) grown for 36 hours in the incubator at 37°C. July 3. 1918.
Note. Enormous painful œdema at site of inoculation 24 hours afterwards. The animal could only drag along the leg corresponding to the shoulder on which inoculation had been made. The œdema extended itself on the following days along the whole leg. On July 10th the leg could not yet be moved. Recovery shortly afterwards.

4th. Inoculation..... 10 c. c, inoculated as in no. 3. July 23. 1918.
Note. Minor general and local lesions.

5th. Inoculation..... 20 c. c. of suspension by intramuscular injection, otherwise as in no. 3. Aug. 7. 1918.

6th. Inoculation..... 20 c. c. as in no. 3. Aug. 20. 1918.
Note. Local swelling. Animal dragged its leg. Fed well.

7th. Inoculation..... Inoculated by BESREDKA's technic as in no. 6, Sep. 8 1918.
Note. Local abscess formed. Fetid pus. Wound easily healed.

8th. Inoculation..... 20 c. c. of suspension from 8 agar tubes (the primitive suspension had 40 c. c. of which 20 c. c. were left over).
Intramuscular injection. Sep. 16. 1918.
Note. Voluminous local œdema. Difficulty in walking. Rapid recovery.

Etc. Etc. Etc.

It would be useless to pursue this account which is, I think, sufficient to give an idea of the work on this animal.

Calf A 4.

(Serum against bacilli of the VRYBURG type).

1rst. Inoculation..... 6 c. c. of a suspension in 0.85 °/o saline solution by intramuscular injection. Mixed suspension: 4 strains of bacilli of the VRYBURG type. No reaction. June 18. 1918.

2nd. Inoculation..... 10 c. c. of a suspension of live cultures from the surface of 8 tubes of agar left for 36 hours in the incubator at 37°C. Strains of VRYBURG bacilli.
Intramuscular injection, July 3. 1918,
Note. Considerable local oedema. The animal does not move the corresponding leg much. Rapid recovery. July 10. 1918.

3rd. Inoculation..... 12 c. c. as in the second. Aug. 27. 1918.

4th. Inoculation..... As in the second. Aug. 27. 1918.

5th. Inoculation..... 20 c. c. inoculated as in the second. Aug. 20. 1918.

Note. Considerable swelling. The animal does not move the leg corresponding to the site of injection.

6th. Inoculation..... 20 c. c. of suspension as in the second inoculated according to BESREDKA's technic so as to avoid anaphylaxis· Intramuscular injection. Sep. 11. 1918.

7th, Inoculation..... 24 c. c. as in the second.

Note Claudication of leg. Volumiuous local œdema. Sep. 23. 1918.

8th. Inoculation..... 10 c. c. inoculated as in the second. Oct. 3. 1918.

3 months' interval.

The inoculations were taken up again by injecting blood, pus and triturated organs. The animal contracted the typical disease. It became thin, lost its hunger. Typical polmões and so forth. I treated it with serum of OXEN 10 X, 11 X, etc.

It recovered. This animal was then used for numerous immunising inoculations. It was possible to arrive at inoculating considerable doses of virulent material under the skin (450 c. c. altogether, 250 c. c. by intravenous injection of a suspension of pus and viscera end 210 c. c. of blood at one time by subcutaneous injection). Up to the present time it has received 45 inoculations of virulent material from different sources by different kinds of injectiou.

Explanation of Figures.

CHARTS.

N. 34 — Ox inoculated on Sept. 8. 1919, at Bello Horizonte, with pus from ox of Peripiry. This is an instance of lowered tempeture.

N. 80—Ox inoculated with 5 c. c. of a suspension of the triturated kidney, spleen and liver of calf. n. 78, Sep. 8. 1920.

N. 75—Ox inoculated on June 67. 1920, at 3 p. m., with 50 cc. of defibrinated blood of ox D., 25 c. c. by subcutaneous and 25 c. c. by intravenous injection.

N. 68—Ox inoculated on March 15. 1920, at 4 p. m., with 2 c. c. of triturated organs and secretion of local œdema of calf 67 (which in its turn had been inoculated with viruvirulent material of calf 65) by subcutaneous injection. Death on Oct. 17. 1920 (5 months later). Toxic form, typical lesions. The first part of the chart is the adaptation of the animal (from the fields) to the stable.

N. 65—Where January is written on the second plate February should be read. Natural disease: The rare *polmões* disappeared completely up to Feb. 1. 1920. The animal began to «shrivel together». Toxic form.

N. 63.—Toxic form. It had a few *polmões*. On Jan. 1. 1920 these swellings disappeared completely from the skin. The calf began to «shrivel». It came to cachexia after 120 days of disease.

N. 79—Ox inoculated with a pure culture of bacillus of the VRYBURG type. Practically no fever is to be noted.

N. 2 P—Calf inoculated with a pure broth culture of *Diplococcus polmonis* var. *b*, subcutaneous injection. Death in 18 days. Typical *polmões* considerable emaciation: *Diplococcus* reisolated from organs and local pus. Only a characteristic instance of the temperature is given, taken at Pelotas, State of Rio Grande do Sul, from March to April.

N. 3—Temperature chart of a normal ox, of the HEREFORD breed, at Pelotas, State of Rio Grande do Sul, for comparison: 1rst. with another normal one of «creoulo» breed taken in the State of Minas Geraes; 2nd. with other diseased cattle in the State of Rio Grande do Sul. April 1921.

N. 17—Temperature chart of a rabbit inoculated with a pure culture of *Diploccoccus polmonis* «*b*» by subcutaneous injection. 48 hours' culture in broth. Formation of a typical polmão in the wall of the abdomen. Pelotas, April 1921.

N. 16—Temperature chart of a normal ox, «creoulo» breed, at Pelotas, State of Rio Grande do Sul. For comparison with other cattle of the same breed of this and other states.

N. 11 P.—Ox inoculated on Jan. 20. 1921, in the morning, with a pure broth culture of *Diplococcus polmonis* «*b*». Typical polmões. Characteristic lesions in kidneys, spleen and liver. Effusion in pericardium and peritoneum. *Diplococcus polmonis* «*b*» reisolated from organs and local pus. Death in one month and nine days.

N. 64—Inoculated with a culture of diphtheroid bacillus 2 c. c. by subcutaneous injection. Discharged.

N. 89—Inoculated with 2 c. c. of a suspension of a culture of bacillus of the VRYBURG type, isolated from the blood of ox D. Discharged.

N. 90—Inoculated on July 24. 1920, with a suspension of culture of *Diplococcus polmonis «b»* isolated from pus of ox D. Discharged.

N. 15—Inoculated on the morning of July 22nd 1920, with 10 c. c., 5 c. c. by subcutaneous and 5 c. c. by intravenous injection, of a suspension of bacilli of the VRYBURG type. Death in 14 days. No *polmões*.

N. 77—Inocuated with bacilli of the VRYBURG type isolated from ox D, intravenous injection. Discharged.

N. 82—Inoculated with 4 cc. of a broth culture of the diphtheroid bacillus isolated from ox D. Subcutaneous injection.

N. 52—Ox inoculated by subcutaneous injection with 10 cc. of a broth culture of *Diplococcus polmonis "b"*, isolated from the pus of calf 56, on Dec. 13-1920. Local swelling, emaciation. The polmão formed was full of a fetid pus, from which were isolated the common micro-organisms already described. Discharged.

N. 1—Colt inoculated with 5 cc. of a culture of bacilli of the VRYBURG type (isolated from calf 66), on the morning of Feb. 13-1920. Discharged.

N. 51—Ox inoculated on Dec. 24-1919, with a pure culture of *Diplococcus polmonis "b"*, isolated from the tumour of rabbit which in its turn had been inoculated with an anaerobic culture of the pus of calf 56. Subcutaneous injection. There was local pus formation. Animal sad. Death in 7 days. From the pus the *diplococcus* and bacilli of the VRYBURG type were reisolated. Pulmonary and intestinal congestions. Effusion in peritoneum and pericardium.

N. 73—Inoculated on June 12-1920 with 3 cc. of a suspension of a culture of bacilli of the VRYBURG type, isolated from ox D, subcutaneous injection. This chart is given out of a sense of duty. During life nothing was shown of the disease. Bacilli of the VRYBURG type were not reisolated. The animal put on weight. It had no polmões or diarrhœas. There was at this moment a sudden fall of temperature in Bello Horizonte. Post-mortem showed a considerable quantity of *pneumococcus* in the lung. *Pneumococcus* was isolated.

N. 14—Animal of "creoulo" race, raised in the fields of Brazil. In the second part of this graphic in the place in which June is indicated, July should be read. Inoculated on June 20-1919, in the morning, with triturated ticks *(Boophilus microplus* and *Amblyomma cayennense)*, intravenous injection. The ticks had been taken from the body of an ox with the natural disease (Curralinho). Death after one month and eighteen days of disease.

N. 61—Animal of "creoulo" race, raised in the fields of Brazil. Inoculated on the afternoon of Dec. 20-1919, by subcutaneous injection, with 10 cc. of triturated ticks *(Boophilus microplus)*, taken from calf 56 (with the natural disease) and kept in the laboratory during 72 hours. On the Jan. 2 it had typical polmões, emaciation. It also showed swelling of joints.

N. 32—Ox inoculated with virulent pus subcutaneously, on Sept. 8-1919. This is an instance of lowered temperature. Ox raised in the fields of Brazil.

N. 23—Ox raised in the fields of Brazil inoculated with virulent pus, subcutaneous injection on July 30-1919.

N. 13b—Light form. Ox inoculated with virulent pus on July 30-1919.

N. 12—Ox inoculated with virulent pus subcutaneous injection. Slight variation of temperature.

N. 9—Ox inoculated with pus by subcutaneous injection. Negative result.

N. 13—Calf inoculated with virulent pus from calf 63, May 1-1920.

N. 74—From this chart the 31rst of June must be withdrawn and the rest corrected thence forward. Instead of September August must be read. Inoculated with 10 cc. of suspension of pus of ox D, subcutaneous injection, on June 5-1920. On the 20th the polmão was opened at the site of inoculation.

N. 86—Subcutaneous injection of 9 cc. of virulent pus from an animal with the natural disease, suspended in saline solution, in three different points of the body, 3 c. c. in each. It did not have any diarrhœa. It had some polmões. 34 days of disease and death.

N. 27—Injected with 5 c. c. of a suspension of pus of calf 63, in the vein, on the afternoon of May 1. 1920.

N. 59—Ox inoculated with 45 c. c. (22 c. c. by intravenous and 23 c. c. by subcutaneous injection) of a suspension of triturated ticks from calf. n. 56, passed through BERKEFELD filters. High fever, emaciation and typical polmões. The disease kept in series, with the pus from these swellings.

N. 58—Ox inoculated with 20 c. c. of a suspension of pus from calf 56, passed through BERKEFELD filters by subcutaneous injection and 10 c. c. by intravenous injection, at 3 p. m. on Jan. 20. 1920.

N. 39—Ox inoculated with 20 c. c. of a suspension of pus and defibrinated blood from ox of Peripiry, filtered through BERKEFELD filters in the morning, on Jan. 15. 1920. It had 41°C. of fever, white diarrhœa, on the 18th. Intense diarrhœa lasted up to the 29th.

N. 10—Ox inoculated with the pus and blood of other oxen with the natural disease (mixed form), passed through BERKEFELD filters. Injection on July 11. 1920. Slight temperature reaction.

N. 53—Ox inoculated with 25 c. c. of filtered triturated viscera (calf n. 56). A segment of the chart. Inoculation was made on the 19th, subcutaneously. Toxic form. It died after 1 month and 4 days of disease, extremely emaciated.

55a—Calf, which was still sucking, when inoculated with 5 c. c. of a suspension in 8.5 °/oo saline solution of dried virus. This material was negative as regards visible micro-organisms, both aerobic and anaerobic. Subcutaneous injection on Dec. 11. 1920, in the afternoon. It had high fever and diarrhœa.

N. 67—Ox inoculated with 22 c. c. of a suspension of triturated organs from calf 63 (toxic form), by subcutaneous injection in the afternoon of Feb. 12. 1920. Death on the 14th in the morning.

N. 62—Received a subcutaneous injection of 12 c. c. of suspension of viscera and pus of calf 56 triturated in saline solution at 8.5 o/oo (chronic form, cutaneous modality). Diarrhœa, dejection. Death in 72 hours.

N. 26—Chart of a healthy ox on the same occasion.

N. 2 X—Chart of an ox from Peripiry, natural disease.

N. 10 A—Chart of a normal ox.

N. 20—Chart of a normal ox.

N. 24—Chart of an ox with the natural disease. Chronic form, cutaneous, irregular. Death on Aug. 14. 1919.

Ox D—Ox with the natural disease, chronic form. cutaneous modality. Segments from chart, 8 months of disease (April-November). Death. Typical lesions. The already described micro-organisms were isolated. Many polmões. The animal never had diarrhœa. It became very lean. The polmões remained until death.

N. 8—Chart of an ox with the natural disease, chronic form, cutaneous modality.

N. 1 X—Chart of an ox with the natural disease, chronic form, cutaneous modality.

N. 56—Natural disease. One month old calf. It arrived at the laboratory extremely thin. It had "Curso preto" (Black diarrhœa). I counted 66 cutaneous polmões. Death.

N. 66—Natural disease, chronic form cutaneous modality. Death.

N. 22—Ox with the experimental disease, severe chronic form, cutaneous modality. An instance of raised temperature.

N. 70—Ox with the experimental disease, chronic form. 25 c. c. of triturated viscera of calf n. 63 inoculated on March 13. 1920, 15 by subcutaneous injection and 10 c. c. by intravenous. Painful oedema at point of inoculation on the 15th. Death on March 26.

PHOTOGRAPHS AND MAPS.

Map. N. 1—Distribution of the disease in Brazil.

Map. N. 2—Distribution of the disease in the State of Minas Geraes.

Phot. N. 1—Natural disease of calf N. 56. Severe chronic form, cutaneous modality (Peste dos Polmões).

Phot. N. 2 Experimental disease. Chronic form, cutaneous modality. Swelling of joint of right fore-leg.

Phot. N. 3—Ox D. Natural disease. Chronic form, cutaneous modality.

Phot. N. 4—Calf n. 68b. Natural disease. Severe chronic form, cutaneous modality.

Phot. N. 5—Natural disease, chronic form, cutaneous modality. Articular swelling.

Phot. N. 6—Experimental disease. Experimental disease, chronic form cutaneous modality. Calf inoculated with suspension of triturated ticks passed through a BERKEFELD filter.

Phot. N. 7—Experimental disease; natural appearance of polmões. Severe chronic form, cutaneous modality. Death. Calf inoculated with a suspension of the pus of another ox, with the natural disease, passed through a BERKEFELD filter.

Phot. N. 8—Another calf inoculated with material passed through BERKEFELD filters. Suspension of pus and blood of an ox with the severe chronic form, cutaneous modality, natural disease. The experimental disease, severe chronic form, cutaneous modality was obtained. Death.

Phot. N. 9—Another aspect of calf N. 7

Phot. N. 10—Case of an adult ox, in the neighbourhood of Lassance (panzootic of 1919). Severe chronic form, cutaneous modality. Death.

Phot. N. 11—Ox N. 26. Polmão. Inoculated with triturated ticks without filtration. Experimental disease.

Phot. N. 12—Calf N. 22. Experimental disease. On the left buttock there is a large polmão. Injected with pus of an ox from Curraliuho.

Phot. N. 13—Ox with the natural disease. Severe chronic form, cutaneous modality. Death. Polmões seen from side after shaving off the fur.

Phot. N. 14 – Calf N. 63. Chronic form, toxic modality. Natural disease.

Phot. N. 15 – Calf N. 65. Natural disease. Chronic form, toxic modality.

Phot. N. 16 – Calf N. 65a. Experimental disease. Chronic form. Cutaneous modality. Injected with triturated viscera of animals with the natural disease, toxic form.

Phot. N. 17 – Calf N. 17. Inoculated with an anaerobic culture of pus. Experimental disease. There was formation of two small polmões.

Phot. N. 18 – Experimental disease. Calf inoculated with triturated viscera. Formation of a "goitre".

Phot. N. 19 – Experimental disease. Calf inoculated with triturated ticks taken from cattle with the natural disease. Polmões were formed (v. arrow). Death with toxic form.

Phot. N. 20 – Polmão in the middle of pulmonary parenchyma. Ox with natural disease, severe chronic form, cutaneous modality. The arrow indicates the cavity left in the lung by the voiding of pus.

Phot. N. 21 – Same material. The lungs before opening of the polmão. General apperance of great congestion. The organ is still intact.

Phot. N. 22 – Smear preparation of a pure culture of *Diplococcus polmonis* variety *"b"*. GRAM-positive.

Phot. N. 23 – Smear preparation of a pure culture of *Diplococcus polmonis* variety *"a"*. GRAM-negative.

Phot. N. 24 – Smear-preparation of diphtheroid bacillus.

Phot. N. 25 – Bacillus isolated from triturated ticks.

Phot. N. 26 – Fungus of the Streptothrix type, isolated from polmões.

Phot. N. 27 – GRAM-positive bacilius isolated from pus.

Phot. N. 28 – Bacillus of the VRYBURG type under aerobic conditions.

Phot. N. 29 – Bacillus of the VRYBURG type under anaerobic conditions.

Phot. N. 30 – Colonies of *Diplococcus polmonis* variety *"a"*. Glycerin-agar PETRI dish with 8 or 10 days, growth. Direct culture from pus, almost pure. Only two colonies of Staphylococcus besides.

Phot. N. 31 – Colonies of *Diplococcus polmonis*, variety *"a"*. Cultures of 10 days' growth. Oc. 5. Obj. AA. Tube at O.

Phot. N. 32 – Colonies of bacilli of the VRYBURG type. Agar cultures similar to those of *Diplococcus* var. *"a"*. Oc. 5. Obj. AA. Tube at O.

Phot. N. 33 – Another aspect of the culture of *Diplococcus polmonis* var. *"a"*. Surface colonies.

Phot. N. 34 – Anaerobic culture of bacilli of the VRYBURG type. Minute colonies.

Phot. N. 35 – Direct inoculation of pus in anaerobic medium. Small and large colonies.

Phot. N. 36 – Ticks. *Boophilus microplus*, female, full of blood. One of the transmissors of the disease.

Phot. N. 37 – Ticks. *Amblyomma cajennense*, female. One of the transmissors of the disease.

Phot. N. 38 – Section of skin at margin of polmão.

Phot. N. 39 – Another aspect of section of skin. Margin of the cavity of a polmão. In it many germs were to be seen including those of the VRYBURG type.

Phot. N. 40 – Section of skin. Border of polmão.

Phot. N. 41 – Section of lung tissue. Vessels extremely turgid. Interstitial lesion.

Phot. N. 42 – Section of lung. Pneumonia, cellular-fibrinous alveolar type. Chronic form, cutaneous modality.

Phot. N. 43 – Section of lung. Pneumonia of interstitial type.

Phot. N. 44 – Section of kidney. Acute, hæmorrhagic, glomerulo-tubular nephritis.

Phot. 45—Section of kidney. Chronic nephritis (considerable proliferation of connective tissue).

Phot. N. 46—Experimental disease. Severe, chronic, anomalous, articular form, seen from the side. The arrow points out the orifice of the fistule which communicates with a juxta-articular polmão, the vestiges of which can still be perceived in the borders of the lodge. Calf N. 125. Pelotas, State of Rio Grande do Sul.

Phot. N. 47—The same as previous phot. The wire indicates on each side the course of the fistulous channel.

Phot. N. 48—Experimental polmão in a rabbit inoculated on the wall of abdomen with a culture of *Diplococcus polmonis* var *"b"*. Pelotas, State of Rio Grande do Sul, 1921.

Phot. N. 49—Peste dos Polmões. Severe, chronic form, cutaneous modality. Section of intestine. Inflammation of diphtheritic and hæmorrhagic type. Adherent pseudo-membrane. Oc. 1, Obj. DD, ZEISS.

Phot. N. 50—Another aspect of the same photograph.

Phot. N. 51—Section of intestine of photograph n. 40, but viewed as a whole under weak magnification.

NOTE.

To the list of synonyms given at the beginning of this work I may add the following; «febre dos pantanos» (Marsh Fever), «entequê», «multiform septicæmia».

I must also mention a fact experimentally ascertained.

It was only after the great panzootic of 1919, that I was able to bring together in one clinical syndrome the chronic forms and the acute form of the disease.

I had been able to transform experimentally an acute into a chronic form and conversely. I had been able to transform a cutaneous form in a toxic form and conversely. Starting from a chronic form, cutaneous modality (peste dos polmões proper), I had arrived at the chronic form intestinal modality (diarrhœas, «curso», pneumo-enteritis and so forth).

There remained one proof to be made, the last; to transform a classical, pure pneumo-enteritis in «peste dos polmões», also pure. This I have now been able to perform, working with a virus of pneumo-enteritis, of calves, already previously experimented with (with positive results) by Prof. MARQUES LISBOA.